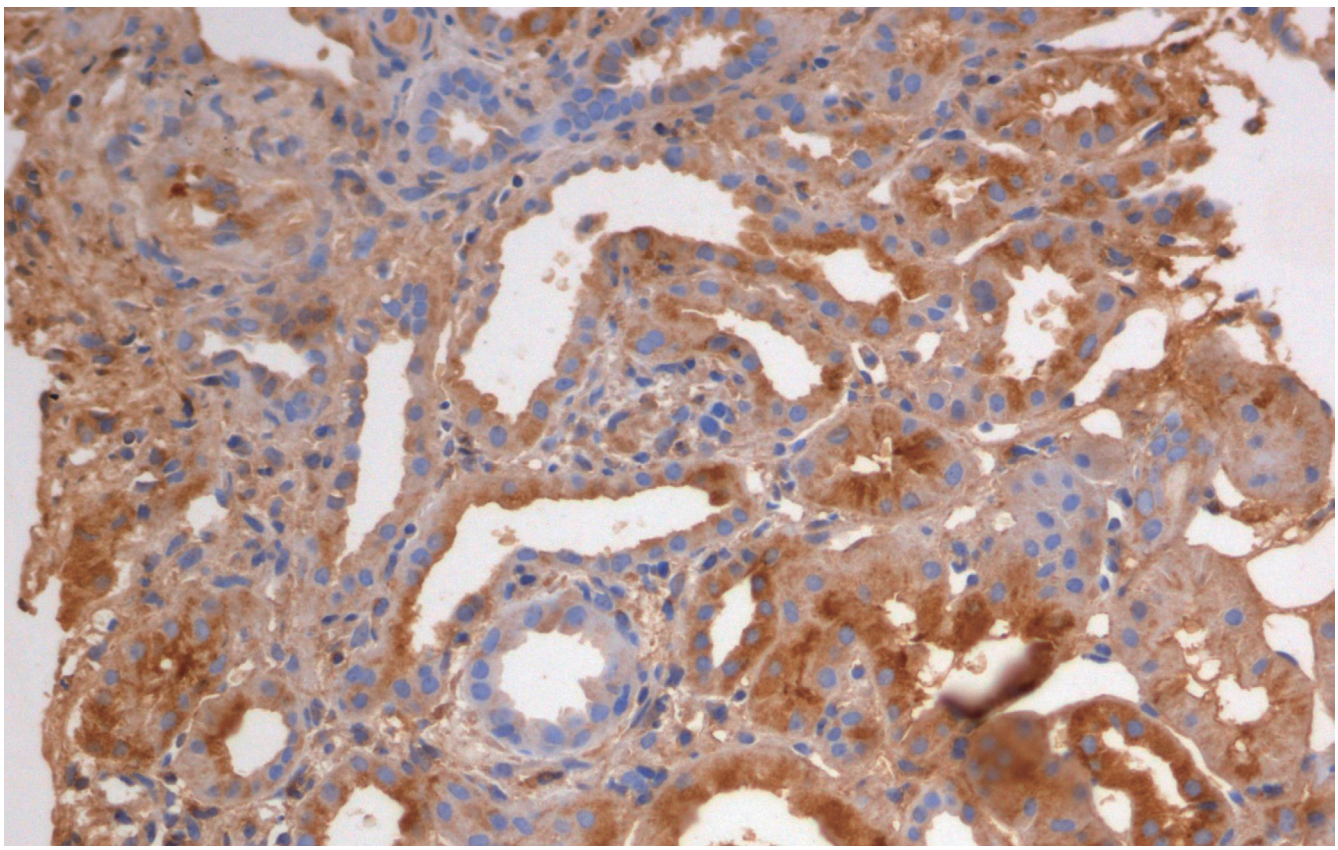
ISSN 1009-3079 (print)
ISSN 2219-2859 (online)

世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2013 年 4 月 8 日　　第 21 卷　　第 10 期　　(Volume 21 Number 10)



10/2013

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

ISSN 1009-3079
9 771009 307056 10>

世界华人消化杂志　www.wjgnet.com　二零一三年四月八日　第二十一卷　第十期

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31
wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

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

总顾问

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

名誉主编

潘伯荣教授

主编

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

编委

消化内科学

白爱平副教授
白岚教授
卜平教授
陈国忠主任医师
陈洪副教授
陈其奎教授
陈卫昌教授
陈贻胜教授
程斌教授
迟宝荣教授
崔立红教授
邓鑫教授
丁士刚教授
董蕾教授
杜雅菊主任医师
杜奕奇副教授
樊冬梅副主任医师
樊晓明教授
房静远教授
冯志杰主任医师
傅春彬主任医师
甘华田教授
高凌副教授
戈之铮教授
关玉盘教授
关晓辉主任医师
郭晓钟教授
郝建宇教授
郝丽萍副教授
何继满教授
何松教授
洪天配教授
黄培林教授
黄晓东主任医师
黄颖秋教授
黄缘教授
季国忠教授
江米足教授
姜春萌教授
姜慧卿教授
姜相君主任医师
金瑞教授
蓝宇教授
李淑德教授
李瑜元教授
李玉民教授
廖家智副主任医师
林志辉教授
刘冰熔教授
刘凤斌教授
刘改芳主任医师
刘海峰主任医师
刘海林主任医师
刘亮明副教授
陆伦根教授
马红主任医师
马欣主任医师
毛恩强教授
毛高平教授
孟庆华教授
缪应雷主任医师
倪润洲教授
欧希龙副教授
潘秀珍教授
潘阳林副教授
朴云峰教授
秦成勇教授
任粉玉教授
任建林教授
邵先玉教授
沈琳主任医师
沈薇教授
施瑞华教授
宋军副教授
唐世刚教授
田宇彬教授
度必光教授
宛新建副教授
王邦茂教授
王炳元教授
王承党教授
王江滨教授
王俊平教授
王蔚虹教授
王晓艳副教授
夏冰教授
夏时海副教授
徐灿霞教授
徐可树教授
杨建民教授
张国主任医师
姚树坤教授
张国梁主任医师
张军教授
张庆瑜教授
张小晋主任医师
张筱茵副教授
张志坚教授
郑培永教授
郑鹏远教授
郑素军副主任医师
郑勇教授
周国雄主任医师
周宇教授
邹晓平主任医师
诸琦教授
于珮主任医师

消化外科学

白雪副主任医师
白雪巍副主任医师
白玉作教授
蔡开琳副教授
蔡三军主任医师
曹杰主任医师
陈炳官教授
陈光教授
陈海龙教授
陈积圣教授
陈进宏副主任医师
陈凛教授
陈汝福教授
陈亚军主任医师
陈钟教授
程爱国教授
程树群副教授
崔云甫教授
戴朝六教授
戴冬秋教授
丁义涛教授
杜顺达副教授
房林教授
傅红副教授
傅华群教授
傅思源副教授
傅晓辉副教授
傅志仁主任医师
高毅主任医师
葛海燕教授
巩鹏副教授
谷俊朝主任医师
顾国利副主任医师
顾岩教授
韩天权教授
郝纯毅主任医师
郝立强副教授
何超教授
何向辉教授
何晓顺教授
何裕隆教授
胡安斌副教授
黄志勇教授
季加孚教授
荚卫东教授
姜波健教授
金山主任医师
康春博副主任医师
孔静副教授
黎乐群教授
李革副教授
李国威教授
李华副教授
李华山主任医师
李升平教授
李胜研究员
李涛副主任医师
李文岗教授
李小荣教授
李旭副教授
李永翔教授
李正荣副教授
李志霞教授
李宗芳教授
梁力建教授
刘宝林教授
刘超教授
刘宏鸣副教授
刘建教授
刘亮副主任医师
刘颖斌主任医师
卢军华教授
陆云飞教授
禄韶英副教授
吕凌副教授
吕云福教授
麻勇副研究员
齐清会教授
秦春宏副主任医师
秦华东教授
秦环龙教授
秦建民主任医师
邱伟华主任医师
仇毓东教授
崔清波副教授
单云峰副主任医师
沈柏用副教授
施宝民教授
施诚仁教授
施晓雷副主任医师
石毓君副研究员
宋新明教授
宋振顺教授
孙诚谊教授
孙文兵教授
孙星副教授
孙学英教授
邰升副教授
谭晓冬教授
汤朝晖副主任医师
汤绍涛教授
唐南洪教授

世界华人消化杂志®

编辑委员会

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

消化感染病学

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

消化中医药学

陈治水主任医师
杜群副研究员
扈晓宇主任医师
黄恒青主任医师
李军祥教授
李康副教授
李晓波教授
李勇副教授
李振华教授
刘成海研究员
刘绍能主任医师
鲁玉辉副教授
南极星教授
牛英才研究员
谭周进教授
王富春教授
王来友副教授
王笑民主任医师
邢建峰副教授
徐列明教授
许玲教授
徐庆教授
袁红霞研究员
张声生教授

消化肿瘤学

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

消化影像学

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

消化内镜及介入治疗学

郝俊鸣副主任医师
李家平教授
刘杰民副主任医师
茅爱武教授
孙明军教授
万军教授
吴沛宏教授
余日胜主任医师
袁友红副教授
张火俊副教授

消化中西医结合学

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

消化基础研究

曹洁副教授
曹鹏副研究员
陈敬贤教授
陈志龙教授
崔莲花副教授
段义农教授
樊红教授
高国全教授
高英堂研究员
管冬元副教授
郭长江研究员
郭俊明教授
何红伟副研究员
何敏教授
黄昆教授
黄文林教授
黄园教授
洪艳教授
李刚教授
李君文研究员
李孟森教授
李文贵副教授
李焱副研究员
李增山副教授
刘长征副教授
刘克辛教授
刘森副教授
宁钧宇副研究员
彭宗根副研究员
任超世研究员
任浩副教授
任晓峰副教授
邵华副主任药师
沈东炎副教授
沈涛副教授
斯坎德尔·白克力教授
台桂香教授
谭学瑞教授
汤静主管药师
滕旭副教授
田文静副教授
汪思应教授
王钦红教授
王书奎教授
魏继福研究员
文彬研究员
吴道澄教授
吴江锋副教授
吴军研究员
吴俊华副教授
吴志强副教授
夏敏教授
徐健副主任医师
徐宁志研究员
许文燮教授
杨晓明教授
阴赪宏研究员
郁卫东副研究员
喻荣彬教授
曾柱教授
张红教授
张淑坤副研究员
赵平教授
赵铁建教授
周南进研究员
周素芳教授
周晓武副主任医师
朱益民教授
竺亚斌研究员

消化病理学

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

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目　次 ●　2013 年 4 月 8 日　第 21 卷　第 10 期　(总第414期)

临床研究

845 TRPC和CHRM在人类胃肠道间质瘤中的表达
徐昕, 王邦茂, 俞清翔, 孙超

851 Foxp3在乙型肝炎病毒相关性肾炎肾组织中的表达及其意义
詹欣宇, 肖琳, 张泽高, 银皓, 鲁晓擘, 张跃新

858 基于去唾液酸糖蛋白受体的循环肝癌细胞磁性分选检测法及其改良
余锋, 陈磊, 徐文, 曹璐, 张妤, 施乐华, 殷正丰

文献综述

865 胃癌和大肠癌TS基因多态性的研究进展
李厚强, 余英豪

873 肝星状细胞与转移性肝肿瘤
徐向南, 肖永胜, 樊嘉

880 急性胰腺炎的评分系统
王东旭, 林连捷, 郑长青

886 从“肺与大肠相表里”理论谈COPD和IBD病理过程的肺肠串扰
刘元, 王新月

研究快报

894 miRNA干扰Rap1对肝癌细胞凋亡的影响
甘平, 查勇, 姚乾, 陈真, 谭晶

临床经验

899 新疆伊犁哈萨克族自治州10年食管癌内镜诊断476例
刘晓燕, 陈卫刚, 郑勇, 齐翠花, 赵强, 韩玉胜, 窦玉勤

904 年龄与胃食管反流病的关系
裴艳香, 尚占民, 郝建宇

908 组织黏合剂治疗胃底静脉曲张术后再出血的相关因素
田念念, 向慧玲, 吕洪敏, 王芳, 聂新华

915 胃肿瘤MSCT表现及其临床病理特征分析56例
林秉淞

920 胰腺实性假乳头状瘤的超声诊断及误诊相关因素
周爱香, 陈伟, 李凌, 李保田, 阴海霞, 屈娟娟, 李成群

925 特殊副脾的CT与MRI征象
彭俊红, 刘松, 周利华, 郭俊林, 王慧明

931 小肠黏液样脂肪肉瘤的临床病理特点
方三高, 马强, 马瑜, 李艳青, 曾英, 肖华亮

936 丹参多酚酸盐对溃疡性结肠炎的疗效
林海, 董云, 费志勇, 陈兴田, 王瑞武, 陈庆法, 徐燕

940 免疫微生态营养替代传统肠道准备在微创治疗结直肠癌中的应用
丁宏达, 苏琪, 殷红专

945 系统性红斑狼疮合并假性肠梗阻的临床特点及预后
杨敏, 梁胜翔, 周润华, 莫汉有

附　　录	Ⅰ-Ⅴ　《世界华人消化杂志》投稿须知 Ⅰ　2013年国内国际会议预告
志　　谢	Ⅰ　志谢世界华人消化杂志编委
消　　息	857　《世界华人消化杂志》正文要求 864　《世界华人消化杂志》修回稿须知 872　中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 879　《世界华人消化杂志》出版流程 885　《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 903　中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 914　《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 919　《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 924　百世登出版集团推出12种开放获取生物医学期刊全部被PubMed和PMC收录 930　《世界华人消化杂志》参考文献要求 935　《世界华人消化杂志》栏目设置 944　《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费
封面故事	詹欣宇, 肖琳, 张泽高, 银皓, 鲁晓擘, 张跃新. Foxp3在乙型肝炎病毒相关性肾炎肾组织中的表达及其意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(10): 851-857 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/851.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i10.851
本期责任人	编务 马帅; 送审编辑 闫晋利, 鲁亚静; 组版编辑 闫晋利; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 黄新珍; 形式规范审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编辑 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平　题写封面刊名
陈可冀　题写版权刊名
(旬刊)

创　刊 1993-01-15
改　刊 1998-01-25
出　版 2013-04-08
原刊名 新消化病学杂志

期刊名称
世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

主编
程英升, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心
党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科
江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科
刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科
刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科
吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科
马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科
王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科
姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心
张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部
田滢, 主任
《世界华人消化杂志》编辑部
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室
电话: 010-59080035
传真: 010-85381893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

出版
百世登出版集团有限公司
Baishideng Publishing Group Co., Limited
Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

制作
北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室
电话: 010-85381892
传真: 010-85381893

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

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

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

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

定价
每期68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归Baishideng所有

World Chinese Journal of Digestology

April 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 10

CLINICAL RESEARCH

845 Expression of transient receptor potential channels and cholinergic muscarinic acetylcholine receptors in human gastrointestinal stromal tumors
Xu X, Wang BM, Yu QX, Sun C

851 Significance of expression of forkhead/winged helix transcription factor in HBV-associated glomerulonephrititis
Zhan XY, Xiao L, Zhang ZG, Yin H, Lu XB, Zhang YX

858 Detection of circulating tumor cells in patients with hepatocellular carcinoma using an improved asialoglycoprotein receptor-based separation method
Yu F, Chen L, Xu W, Cao L, Zhang Y, Shi LH, Yin ZF

REVIEW

865 TS gene polymorphisms in gastric cancer and colorectal cancer
Li HQ, Yu YH

873 Hepatic stellate cells and metastatic liver neoplasms
Xu XN, Xiao YS, Fan J

880 Acute pancreatitis scoring systems
Wang DX, Lin LJ, Zheng CQ

886 Pulmonary-intestinal crosstalk in the pathological process of COPD and IBD: A perspective from the lung and the large intestine being interior-exteriorly related theory
Liu Y, Wang XY

RAPID COMMUNICATION

894 miRNA interference-mediated Rap1 gene silencing increases apoptosis in hepatocellular carcinoma cell line HepG2
Gan P, Zha Y, Yao Q, Chen Z, Tan J

CLINICAL PRACTICE

899 Endoscopic diagnosis of esophageal carcinoma inYili Kazak Autonomous Prefecture in Xinjiang over the past ten years: An analysis of 476 cases
Liu XY, Chen WG, Zheng Y, Qi CH, Zhao Q, Han YS, Dou YQ

904 Relationship between age and gastroesophageal reflux disease
Pei YX, Shang ZM, Hao JY

908 Factors affecting re-bleeding after injection of cyanoacrylate for gastric varices
Tian NN, Xiang HL, Lv HM, Wang F, Nie XH

915 MSCT manifestations and pathological features of gastric tumors: An analysis of 56 cases
Lin BS

920 Ultrasonic diagnosis of solid pseudopapillary tumor of the pancreas: Causes of misdiagnosis
Zhou AX, Chen W, Li L, Li BT, Yin HX, Qu JJ, Li CQ

925 CT and MRI characteristics of special types of accessory spleen
Peng JH, Liu S, Zhou LH, Guo JL, Wang HM

931 Clinicopathologic features of myxoid liposarcoma of the small intestine
Fang SG, Ma Q, Ma Y, Li YQ, Zeng Y, Xiao HL

936 Therapeutic effect of salvianolate against ulcerative colitis
Lin H, Dong Y, Fei ZY, Chen XT, Wang RW, Chen QF, Xu Y

940 Use of immune micro-ecological nutrition as an alternative to traditional bowel preparation in minimally invasive treatment of colorectal cancer
Ding HD, Su Q, Yin HZ

945 Clinical characteristics and prognosis of patients with systemic lupus erythematosus with intestinal pseudo-obstruction
Yang M, Liang SX, Zhou RH, Mo HY

APPENDIX	I – V Instructions to authors of *World Chinese Journal of Digestology* I Meeting events calendar in 2013
ACKNOWLEDGMENT	I Acknowledgments to reviewers of *World Chinese Journal of Digestology*
COVER	*Zhan XY, Xiao L, Zhang ZG, Yin H, Lu XB, Zhang YX*. Significance of expression of forkhead/winged helix transcription factor in HBV-associated glomerulonephritis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(10): 851-857 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/851.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i10.851
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: *Shuai Ma* Review Editor: *Jin-Li Yan, Ya-Jing Lu* Electronic Page Editor: *Jin-Li Yan* English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Editor-in-Charge: *Xin-Zhen Huang* Proof Editor: *Ying Tian* Layout Editor: *Lian-Sheng Ma*

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

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date April 8, 2013

NAME OF JOURNAL
World Chinese Journal of Digestology

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

EDITOR-IN-CHIEF
Ying-Sheng Cheng, Professor, Medical Imaging Center, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China
Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China
Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China
Lian-Xin Liu, Professor, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China
Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China
Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hang-zhou 310006, Zhejiang Province, China
Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China
Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China
Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China
Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

EDITORIAL OFFICE
Ying Tian, Director
World Chinese Journal of Digestology
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-59080035
Fax: +86-10-85381893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

PUBLISHER
Baishideng Publishing Group Co., Limited
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,
315-321 Lockhart Road, Wan Chai,
Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188
E-mail: bpg@baishideng.com
http://www.wjgnet.com

PRODUCTION CENTER
Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu,
Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-85381892
Fax: +86-10-85381893

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

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

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

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

世界华人消化杂志 2013年4月8日; 21(10): 845-850
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

TRPC和CHRM在人类胃肠道间质瘤中的表达

徐 昕, 王邦茂, 俞清翔, 孙 超

徐昕, 王邦茂, 俞清翔, 孙超, 天津医科大学总医院消化科 天津市 300052
徐昕, 主要从事胃肠动力与消化系肿瘤的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81000157
作者贡献分布: 此课题由徐昕、王邦茂及俞清翔设计; 免疫组织化学实验由徐昕与孙超完成; 论文写作由徐昕与王邦茂完成.
通讯作者: 王邦茂, 教授, 300052, 天津市和平区鞍山道154号, 天津医科大学总医院消化科. gi.tmuh@sohu.com
收稿日期: 2012-11-27 修回日期: 2013-01-04
接受日期: 2013-01-05 在线出版日期: 2013-04-08

Expression of transient receptor potential channels and cholinergic muscarinic acetylcholine receptors in human gastrointestinal stromal tumors

Xin Xu, Bang-Mao Wang, Qin-Xiang Yu, Chao Sun

Xin Xu, Bang-Mao Wang, Qin-Xiang Yu, Chao Sun, Department of Gastroenterology, the General Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81000157
Correspondence to: Bang-Mao Wang, Professor, Department of Gastroenterology, the General Hospital of Tianjin Medical University, 154 Anshan Road, Heping District, Tianjin 300052, China. gi.tmuh@sohu.com
Received: 2012-11-27 Revised: 2013-01-04
Accepted: 2013-01-05 Published online: 2013-04-08

Abstract

AIM: To investigate the expression of transient receptor potential channels (TRPCs) and cholinergic muscarinic acetylcholine receptors (CHRMs) in human gastrointestinal stromal tumors (GISTs).

METHODS: Immunohistochemical method was used to detect the expression of TRPC and CHRM in GISTs.

RESULTS: GISTs expressed TRPC1, TRPC3, CHRM2 and CHRM3, and the positive rate was 57.5%, 47.5%, 22.5% and 55.0%, respectively. The expression levels of TRPC and CHRM decreased as the malignant potential grade of biological behaviors GISTs increased.

CONCLUSION: Our finding that GISTs express TRPC1, TRPC3, CHRM2 and CHRM3 provides new evidence for the origination of GIST from interstitial cells of Cajal.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Gastrointestinal stromal tumors; Interstitial cells of Cajal; Transient receptor potential channels; Cholinergic muscarinic acetylcholine receptors

Xu X, Wang BM, Yu QX, Sun C. Expression of transient receptor potential channels and cholinergic muscarinic acetylcholine receptors in human gastrointestinal stromal tumors. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(10): 845-850
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/845.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i10.845

摘要

目的: 探讨瞬时受体电位通道(transient receptor potential channels, TRPC)和胆碱能毒蕈碱受体(muscarinic acetylcholine receptors, CHRM)在人类胃肠道间质瘤(gastrointestinal stromal tumor, GIST)中的表达及相关性.

方法: 以免疫组织化学的方法检测TRPC及CHRM在GIST肿瘤细胞中的表达及相关性分析.

结果: 人类GIST细胞中存在TRPC1、TRPC3、CHRM2、CHRM3的表达, 阳性率分别为57.5%、47.5%、22.5%、55.0%, 且随着GIST生物学行为恶性潜能分级的增高其表达水平分别下降.

结论: 本研究证明人类GIST细胞中存在TRPC和CHRM的表达, 为GIST起源于Cajal间质细胞(interstitial cells of Cajal, ICC)提供了新的证据, 为GIST是否保留了部分ICC的胃肠起搏和介导神经递质传递功能奠定了基础.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 胃肠道间质瘤; Cajal间质细胞; 瞬时受体电位通道; 胆碱能毒蕈碱受体

■背景资料
胃肠道间质瘤(GIST)是消化系最常见的间叶组织源性肿瘤, 年发病率为1.2-1.4/10万. GIST具有潜在恶性的生物学行为, 目前普遍认为GIST起源于Cajal间质细胞(ICC)或向ICC分化的潜能干细胞. ICC是一类特殊的介于神经细胞与成纤维细胞之间的间质细胞, 通过发挥胃肠道基本电节律的起搏和介导神经递质传递的功能而调控胃肠道动力.

■同行评议者
陈其奎, 教授, 中山大学附属第二医院消化内科

■研究前沿
本研究通过检测瞬时受体电位通道(TRPC)及胆碱能毒蕈碱受体(CHRM)在人类GIST肿瘤细胞中的表达情况，分析TRPC及CHRM表达与GIST临床病理学特征的相关性，探讨人类GIST肿瘤细胞是否在其分化发展过程中保留了ICC发挥胃肠起搏和介导神经递质传递功能的关键结构，旨在为进一步研究GIST肿瘤细胞的电生理学特性奠定基础.

核心提示: 本研究首次探讨了人类胃肠道间质瘤(gastrointestinal stromal tumor, GIST)中瞬时受体电位通道和胆碱能毒蕈碱受体表达的相关性. 不仅为GIST起源于Cajal间质细胞(interstitial cells of Cajal, ICC)或向ICC分化的潜能干细胞提供了佐证; 也提示GIST细胞很可能保留了ICC的部分生物学活性, 推测其具备细胞兴奋性和神经递质介导的功能.

徐昕, 王邦茂, 俞清翔, 孙超. TRPC和CHRM在人类胃肠道间质瘤中的表达. 世界华人消化杂志 2013; 21(10): 845-850 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/845.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i10.845

0 引言

胃肠道间质瘤(gastrointestinal stromal tumor, GIST)是消化系最常见的间叶组织源性肿瘤, 年发病率为1.2-1.4/10万[1], 目前普遍认为GIST起源于Cajal间质细胞(interstitial cells of Cajal, ICC)或向ICC分化的潜能干细胞[2]. ICC通过发挥胃肠道基本电节律的起搏和介导神经递质传递的功能而调控胃肠道动力, 而研究证实瞬时受体电位通道(transient receptor potential channels, TRPC)和胆碱能毒蕈碱受体(muscarinic acetylcholine receptors, CHRM)为ICC发挥以上作用的相关结构蛋白. 本研究旨在探讨TRPC和CHRM在GIST细胞中的表达及相关性分析, 探讨人类GIST细胞是否保留了ICC发挥胃肠起搏和介导神经递质传递功能的相关结构.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2006-01/2010-12我院病理科资料完整、诊断明确的40例GIST标本. 对照组为40例胃肠道平滑肌瘤标本. 一抗及SABC免疫组织化学染色试剂盒均为武汉博士德生物公司产品.

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学法: 40例GIST标本均经10%甲醛固定, 常规石蜡包埋切片, HE染色和免疫组织化学染色. 免疫组织化学染色采用SABC法, 分别标记TRPC1、TRPC3、CHRM2和CHRM3. 阴性对照采用抗体稀释液代替一抗, 阳性对照采用已知的胃肠道平滑肌瘤组织标本. 免疫组织化学结果分析标准: TRPC1、TRPC3、CHRM2和CHRM3受体阳性表达棕黄色颗粒定位于胞膜或胞浆. 反应强度划分为4级: 阴性(-), 瘤细胞无阳性反应或阳性数<10%; 弱阳性(+), 瘤细胞阳性数10%-25%; 中度阳性(++), 瘤细胞阳性数25%-50%; 强阳性(+++), 瘤细胞阳性数≥50%.

1.2.2 GIST生物学行为恶性潜能分级标准[3]: 极低风险性: 肿块最大直径<2 cm, 核分裂相<5/50 HPF; 低风险性: 肿块最大直径2-5 cm, 核分裂相<5/50 HPF; 中风险性: 肿块最大直径5-10 cm, 核分裂相<5/50 HPF或最大直径<5 cm, 核分裂相6-10/50 HPF; 高风险性: 肿块任何大小、核分裂相>10/50 HPF或肿块最大直径>10 cm或肿块最大直径>5 cm, 核分裂相>5/50 HPF.

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件, 应用χ^2检验精确概率法, P<0.05认为有统计学意义.

2 结果

2.1 临床资料 本组GIST 40例, 其中男19例, 女21例, 年龄26-73岁, 平均54.6岁, 中位年龄53.5岁. 其中16例以不同程度的消化道出血为主要临床表现, 13例表现为腹胀、上腹不适、消化不良等非特异性消化系症状, 6例表现为腹痛, 5例无任何症状仅为内镜检查时偶然发现.

2.2 病理组织学表现 本组GIST 40例, 位于胃21例, 小肠15例, 食管4例, 均无转移灶. 肿瘤最大直径为0.4-15.0 cm, 平均5.3 cm. 大多数GIST肿瘤呈膨胀性生长、无包膜, 切面灰白、实性、质韧. 镜检下肿瘤细胞形态有2种: 一种为梭形, 核呈杆状, 两端尖或钝圆, 胞浆略嗜酸性或嗜碱性, 排列呈交叉束状、漩涡状、车辐状; 一种为上皮样细胞呈圆形或多角形, 核圆, 胞浆丰富淡染, 常见空泡形成, 呈弥漫片状、巢索状排列. 本组40例GIST肿瘤标本, 27例为梭形细胞型, 4例为上皮样细胞型, 9例为混合型. 根据GIST生物学行为恶性潜能分级标准, 本组极低风险性9例, 低风险性11例, 中风险性10例, 高风险性10例.

2.3 免疫组织化学结果

2.3.1 TRPC和CHRM在GIST中的表达: 本组40例GIST中TRPC1表达阳性率57.5%(图1A), TRPC3表达阳性率47.5%(图1B). 阳性颗粒主要定位于胞质和胞膜, 呈棕黄色颗粒分布, 大多表现为弱阳性及中度阳性表达. 与对照组胃肠道平滑肌瘤相比, GIST组TRPC表达水平相对较高, 差异有统计学意义(χ^2 = 5.051, P<0.05; χ^2 = 4.381, P<0.05).

本组40例GIST中CHRM2表达阳性率22.5%(图1C), CHRM3表达阳性率55.0%(图1D). 阳性颗粒主要定位于胞质和胞膜, 呈棕黄色颗粒分布, 大多表现为弱阳性及中度阳性表达. 与对照组胃肠道平滑肌瘤相比, GIST组CHRM蛋白表达水平较对照组表达水平相对较高, 差异

■相关报道
Furuzonoc等分离GIST细胞进行培养后, 应用全细胞膜片钳技术显示GIST细胞存在电压依赖性外向电流; 细胞内Ca^{2+}浓度测量显示GIST细胞具有自发振荡样改变, 认为GIST细胞保留了一些ICC起搏活性的离子机制.

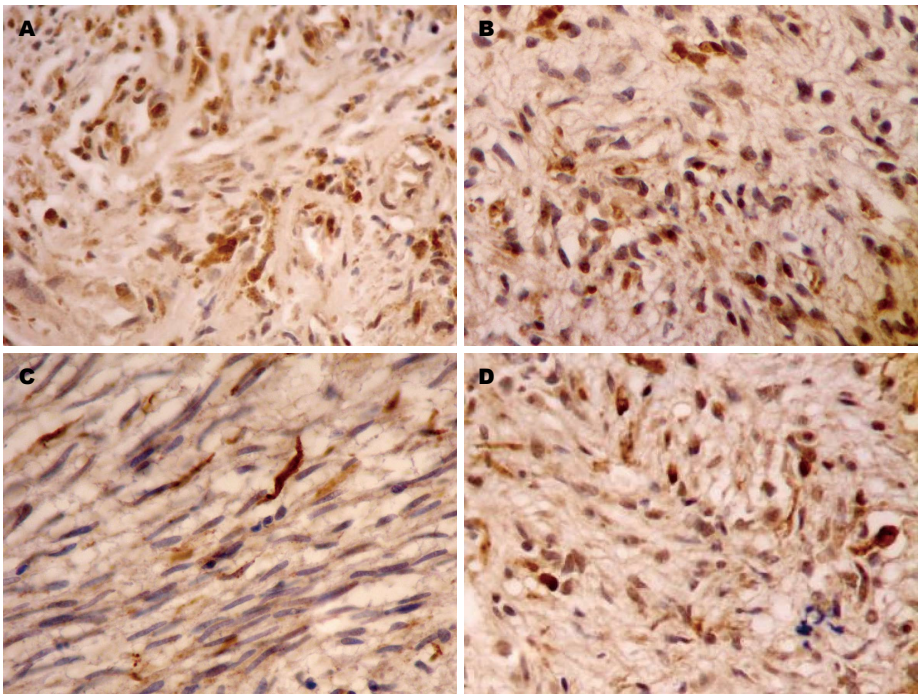


图 1 TRPC1, TRPC3, CHRM2, CHRM3在GIST中的表达(×400). A: TRPC1; B: TRPC3; C: CHRM2; D: CHRM3. TRPC: 瞬时受体电位通道; CHRM: 胆碱能毒蕈碱受体; GIST: 胃肠道间质瘤.

■应用要点

GIST保留了ICC发挥起搏胃肠道慢波运动和介导神经递质传递功能的结构, 那么, GIST很可能具备自律性电活动的生物学功能, 从而影响胃肠道正常慢波活动, 进一步影响正常的胃肠肌电活动. 因此, 本研究可能为功能性胃肠病的病因学研究和治疗开辟一条全新的思路.

有统计学意义(χ^2 = 4.679, P<0.05; χ^2 = 5.920, P<0.05).

2.3.2 TRPC和CHRM与GIST临床病理特征的关系: 根据GIST临床病理学特征进行分类分组, 结果得出: TRPC在GIST性别分组和不同年龄分组中表达无显著性差异(P>0.05); 就GIST肿瘤部位而言, 胃内GIST较食管和小肠GIST, 表达TRPC相对较高, 差异有统计学意义(χ^2 = 6.369、5.600, P<0.05); 就组织学类型而言, 梭形细胞型GIST较上皮细胞型和混合型GIST表达TRPC相对较高, 差异有统计学意义(χ^2 = 4.856、4.495, P<0.05); 就生物学行为恶性潜能分级而言, 极低危险度和低危险度GIST相对于中危险度和高危险度GIST, 表达TRPC较高, 差异有显著统计学意义(χ^2 = 8.286、14.545, P<0.01, 表1).

CHRM在GIST性别分组和不同年龄分组中表达差异无显著性(P>0.05); 胃内GIST较食管和小肠GIST、CHRM3表达量较高, 差异有统计学意义(χ^2 = 4.822, P<0.05); 梭形细胞型GIST中CHRM3的表达量较上皮细胞型和混合型GIST中的高, 差异有统计学意义(χ^2 = 7.636, P<0.01); 极低危险度和低危险度GIST相对于中危险度和高危险度GIST、CHRM的表达量高, 差异有显著统计学意义(χ^2 = 7.025、10.101, P<0.01, 表2).

3 讨论

GIST是一种常见的消化系间叶组织源性肿瘤, 年发病率为1.2-1.4/10万[1], 占消化系所有恶性肿瘤的1%-3%[4]. GIST微小瘤, 可伴发于散发性GIST或仅在胃肠道术后标本或尸检中偶然发现, 检出率达9.1%-35.0%[5-8]. GIST可发生于全胃肠道, 主要位于胃, 其次为小肠, 少数发生于结直肠及食管, 临床症状主要包括消化道出血、腹痛、腹胀、腹部不适、肠梗阻及非特异性乏力体重减轻等[9]. 目前普遍认为GIST为起源于ICC或多潜能干细胞向ICC分化的肿瘤[2], ICC是一类特殊的胃肠道间质细胞, 呈网状结构分布于胃肠道肌层之间, 负责胃肠道基本电节律的起搏及介导神经递质的传递[10]. ICC产生起搏电流的机制目前主要认为其与细胞内三磷酸肌醇介导的钙库、线粒体和细胞膜上的非选择性阳离子通道3者有关[11], 而TRPC为其中重要的非选择性阳离子通道之一[12]. ICC的另一功能是接受肠神经系统神经元的信号传递, 神经冲动可通过ICC传至平滑肌, 并引发胃肠平滑肌细胞的收缩. 细胞分离和培养发现, ICC细胞膜上可表达多种受体如CHRM、神经激肽受体、血管活性肠肽受体等[13].

目前普遍认为GIST为起源于ICC或多潜能干细胞向ICC分化的肿瘤, 且有研究认为弥漫性ICC增生即为GIST的瘤前形式[6]. 二者不仅具有相似的细胞超微结构, 共同表达KIT和CD34, 而ICC是胃肠道中唯一表达KIT和CD34的细胞. 新近发现干蛋白、PKθ也可同时在ICC和GIST表达, 钾离子通道基因*KCNK3*、*KCNK2*亦同时表达于ICC和GIST[14]. DOG1是新近发现表达于

■名词解释

瞬时受体电位通道家族: 近年来发现存在于细胞膜或胞内细胞器膜上的一类非选择性阳离子通道, 主要通透钙离子、钠离子和镁离子. TRP通道的人类同源物TRPC及其他类似物, 构成TRP通道超家族, 包括以下几个型: TRPC、TRPV、TRPM、TRPP、TRPML和TRPA. 最新研究结果证实, TRPC通道可能是钙库操控的离子通道中的一种, 是细胞转运钙离子的新通道.

表 1 TRPC与GIST临床病理特征的关系

临床病理特征	*n*	TRPC1					TRPC3				
		–	+	++	+++	*n*(%)	–	+	++	+++	*n*(%)
性别											
男	19	8	4	5	2	11(57.9)	10	4	3	2	9(47.4)
女	21	9	4	6	2	12(57.1)	11	5	2	3	10(47.6)
年龄(岁)											
<54	20	9	3	6	2	11(55.0)	11	3	3	3	9(45.0)
≥54	20	8	5	5	2	12(60.0)	10	6	2	2	10(50.0)
部位											
食管	4	4	0	0	0	0(0.0)	3	0	1	0	1(25.0)
胃	21	4	6	8	3	17(80.9)	7	7	3	4	14(66.7)
小肠	15	9	2	3	1	6(40.0)	11	2	1	1	4(26.7)
组织学											
梭型	27	7	7	9	4	20(74.1)	10	8	4	5	17(62.9)
上皮型	4	4	0	0	0	0(0.0)	3	0	1	0	1(0.0)
混合型	9	6	1	2	0	3(33.3)	8	1	0	0	1(11.1)
风险分级											
极低	9	2	2	2	3	7(77.8)	2	2	2	3	7(77.8)
低	11	2	3	5	1	9(81.8)	3	4	2	2	8(72.7)
中等	10	5	2	3	0	5(50.0)	7	2	1	0	3(30.0)
高	10	8	1	1	0	2(20.0)	9	1	0	0	1(10.0)

TRPC: 瞬时受体电位通道; GIST: 胃肠道间质瘤.

表 2 CHRM与GIST临床病理特征的关系

临床病理特征	*n*	CHRM2					CHRM3				
		–	+	++	+++	*n*(%)	–	+	++	+++	*n*(%)
性别											
男	19	15	2	2	0	4(21.1)	8	4	3	4	11(57.9)
女	21	16	2	3	0	5(23.8)	10	3	4	4	11(52.3)
年龄(岁)											
<54	20	15	2	3	0	5(25.0)	10	3	4	3	10(50.0)
≥54	20	16	2	2	0	4(20.0)	8	4	3	5	12(60.0)
部位											
食管	4	4	0	0	0	0(0.0)	4	0	0	0	(0.0)
胃	21	14	2	5	0	7(33.3)	5	5	4	7	16(76.2)
小肠	15	13	2	0	0	2(13.3)	9	2	3	1	6(40.0)
组织学											
梭型	27	19	4	4	0	8(29.6)	8	5	6	8	19(70.4)
上皮型	4	4	0	0	0	0(0.0)	3	1	0	0	1(25.0)
混合型	9	8	0	1	0	1(11.1)	7	1	1	0	2(22.2)
风险分级											
极低	9	6	1	2	0	3(33.3)	2	3	1	3	7(77.8)
低	11	6	2	3	0	5(45.5)	2	2	3	4	9(81.8)
中等	10	9	1	0	0	1(10.0)	5	1	3	1	5(50.0)
高	10	0	0	0	0	0(0.0)	9	1	0	0	1(10.0)

CHRM: 胆碱能毒蕈碱受体; GIST: 胃肠道间质瘤.

GIST的一种钙离子调节相关门控蛋白, 对GIST 的诊断具有特异性, 而其在动物及人类胃肠道各

型ICC同样特异性表达, 也证实了ICC与GIST的高度同源性[15]. 本研究首次证实人类GIST细胞表达TRPC1、TRPC3、CHRM2、CHRM3蛋白, 如前所属TRPC和CHRM分别为ICC所表达且为发挥电节律起搏和传递功能的关键结构. 因此, 本研究首先为GIST起源于ICC提供了新的证据.

TRPC为近年来发现存在于细胞膜或胞内细胞器膜上的一类非选择性阳离子通道[16], 为钙库操控离子通道的一种, 参与ICC胃肠起搏机制[17]. 研究发现, 当胞内钙库被耗竭时, TRPC会引起一个增强的内向电流, 并伴随着[Ca^{2+}]水平上升[18], 且胞内钙库上的三磷酸肌醇与TRPC有相互作用, 进而引起胞外钙内流[19,20]. Kim等[21]发现小鼠胃肠道ICC起搏机制与非选择性阳离子通道TRPC4、TRPM7密切相关, 而$TRPC4^{-/-}$小鼠慢波表现异常. Chen等[22]发现小鼠小肠ICC中TRPC1、TRPC4的mRNA水平表达增高. Furuzonoc等[23]发现人类GIST细胞表达TRPC1、TRPC3、TRPC6、TRPC7等离子通道蛋白, 认为GIST保留了ICC潜在起搏活性的离子机制. 胆碱能神经为肠神经系统最重要的神经调节之一, 肠神经系统释放乙酰胆碱激活CHRM, 作用于ICC进一步引起平滑肌的收缩[24]. 研究证实, 在ICC缺乏的情况下, 胃底和胃窦部对胆碱能兴奋引起的突触后神经反应被极大减弱或者消失[25,26], 而在野生型动物缺少ICC的胃窦部纵形肌层对胆碱能反应也是减弱的[27]. Ward等[28]报道小鼠胃肠道ICC上的CHRM可接受乙酰胆碱刺激, 从而介导胆碱能神经的调节. Kim等[29]发现胆碱能刺激可以增加胃窦部和体部ICC的起搏频率, 且其效应是由CHMR3介导的. Mckay等[30]最新发现接受胆碱能神经调节的ICC通过激活CHRM3及下游磷脂酶C, 可进一步影响细胞内钾离子电流, 从而影响ICC细胞的兴奋性.

可见, TRPC和CHRM分别为ICC发挥胃肠起搏和介导神经递质传递功能的重要受体蛋白. 本研究发现人类GIST表达有TRPC和CHRM, 且生物学行为恶性潜能分级越低危的GIST表达TRPC和CHRM相对较高. 由此可见, GIST为起源于ICC的肿瘤, 且在其分化发展过程中保留了ICC发挥功能的相关受体蛋白TRPC和CHRM, GIST肿瘤很可能亦保留了部分ICC发挥胃肠起搏和介导胃肠神经递质传递的功能, 从而影响胃肠道慢波运动; 且生物学行为恶性潜能分级越低危的GIST越可能更好的保留其来源细胞ICC的结构, 越可能具备细胞兴奋性而发挥影响胃肠道正常慢波活动的作用, 从而影响正常胃肠道慢波活动, 进一步引起胃肠道运动功能紊乱, 有待于进一步研究.

■同行评价

本文可能为功能性胃肠病的病因学研究和治疗开辟一条全新的思路, 具有一定的指导意义.

4 参考文献

1 Nilsson B, Bümming P, Meis-Kindblom JM, Odén A, Dortok A, Gustavsson B, Sablinska K, Kindblom LG. Gastrointestinal stromal tumors: the incidence, prevalence, clinical course, and prognostication in the preimatinib mesylate era--a population-based study in western Sweden. *Cancer* 2005; 103: 821-829 [PMID: 15648083 DOI: 10.1002/cncr.20862]

2 Robinson TL, Sircar K, Hewlett BR, Chorneyko K, Riddell RH, Huizinga JD. Gastrointestinal stromal tumors may originate from a subset of CD34-positive interstitial cells of Cajal. *Am J Pathol* 2000; 156: 1157-1163 [PMID: 10751339 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)64984-X]

3 Joensuu H. Risk stratification of patients diagnosed with gastrointestinal stromal tumor. *Hum Pathol* 2008; 39: 1411-1419 [PMID: 18774375 DOI: 10.1016/j.humpath.2008.06.025]

4 Cassier PA, Ducimetière F, Lurkin A, Ranchère-Vince D, Scoazec JY, Bringuier PP, Decouvelaere AV, Méeus P, Cellier D, Blay JY, Ray-Coquard I. A prospective epidemiological study of new incident GISTs during two consecutive years in Rhône Alpes region: incidence and molecular distribution of GIST in a European region. *Br J Cancer* 2010; 103: 165-170 [PMID: 20588273 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605743]

5 Agaimy A, Wünsch PH. Sporadic Cajal cell hyperplasia is common in resection specimens for distal oesophageal carcinoma. A retrospective review of 77 consecutive surgical resection specimens. *Virchows Arch* 2006; 448: 288-294 [PMID: 16308708 DOI: 10.1007/s00428-005-0117-x]

6 Agaimy A, Wünsch PH, Hofstaedter F, Blaszyk H, Rümmele P, Gaumann A, Dietmaier W, Hartmann A. Minute gastric sclerosing stromal tumors (GIST tumorlets) are common in adults and frequently show c-KIT mutations. *Am J Surg Pathol* 2007; 31: 113-120 [PMID: 17197927 DOI: 10.1097/01.pas.0000213307.05811.f0]

7 Kawanowa K, Sakuma Y, Sakurai S, Hishima T, Iwasaki Y, Saito K, Hosoya Y, Nakajima T, Funata N. High incidence of microscopic gastrointestinal stromal tumors in the stomach. *Hum Pathol* 2006; 37: 1527-1535 [PMID: 16996566 DOI: 10.1016/j.humpath.2006.07.002]

8 Rossi S, Gasparotto D, Toffolatti L, Pastrello C, Gallina G, Marzotto A, Sartor C, Barbareschi M, Cantaloni C, Messerini L, Bearzi I, Arrigoni G, Mazzoleni G, Fletcher JA, Casali PG, Talamini R, Maestro R, Dei Tos AP. Molecular and clinicopathologic characterization of gastrointestinal stromal tumors (GISTs) of small size. *Am J Surg Pathol* 2010; 34: 1480-1491 [PMID: 20861712 DOI: 10.1097/PAS.0b013e3181ef7431]

9 Lamba G, Gupta R, Lee B, Ambrale S, Liu D. Current management and prognostic features for gastrointestinal stromal tumor (GIST). *Exp Hematol Oncol* 2012; 1: 14 [PMID: 23210689 DOI: 10.1186/2162-3619-1-14]

10 Yin J, Chen JD. Roles of interstitial cells of Cajal in regulating gastrointestinal motility: in vitro versus in vivo studies. *J Cell Mol Med* 2008; 12: 1118-1129 [PMID:

18429936 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2008.00352.x]
11 Sanders KM, Koh SD, Ward SM. Interstitial cells of cajal as pacemakers in the gastrointestinal tract. *Annu Rev Physiol* 2006; 68: 307-343 [PMID: 16460275 DOI: 10.1146/annurev.physiol.68.040504.094718]
12 Liu HN, Ohya S, Furuzono S, Wang J, Imaizumi Y, Nakayama S. Co-contribution of IP3R and Ca2+ influx pathways to pacemaker Ca2+ activity in stomach ICC. *J Biol Rhythms* 2005; 20: 15-26 [PMID: 15654067 DOI: 10.1177/0748730404269572]
13 Faussone-Pellegrini MS. Relationships between neurokinin receptor-expressing interstitial cells of Cajal and tachykininergic nerves in the gut. *J Cell Mol Med* 2006; 10: 20-32 [PMID: 16563219 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2006.tb00288.x]
14 Allander SV, Nupponen NN, Ringnér M, Hostetter G, Maher GW, Goldberger N, Chen Y, Carpten J, Elkahloun AG, Meltzer PS. Gastrointestinal stromal tumors with KIT mutations exhibit a remarkably homogeneous gene expression profile. *Cancer Res* 2001; 61: 8624-8628 [PMID: 11751374]
15 Gomez-Pinilla PJ, Gibbons SJ, Bardsley MR, Lorincz A, Pozo MJ, Pasricha PJ, Van de Rijn M, West RB, Sarr MG, Kendrick ML, Cima RR, Dozois EJ, Larson DW, Ordog T, Farrugia G. Ano1 is a selective marker of interstitial cells of Cajal in the human and mouse gastrointestinal tract. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2009; 296: G1370-G1381 [PMID: 19372102 DOI: 10.1152/ajpgi.00074.2009]
16 Holzer P. TRP channels in the digestive system. *Curr Pharm Biotechnol* 2011; 12: 24-34 [PMID: 20932260 DOI: 10.2174/138920111793937862]
17 Villereal ML. Mechanism and functional significance of TRPC channel multimerization. *Semin Cell Dev Biol* 2006; 17: 618-629 [PMID: 17158075 DOI: 10.1016/j.semcdb.2006.10.010]
18 Zitt C, Zobel A, Obukhov AG, Harteneck C, Kalkbrenner F, Lückhoff A, Schultz G. Cloning and functional expression of a human Ca2+-permeable cation channel activated by calcium store depletion. *Neuron* 1996; 16: 1189-1196 [PMID: 8663995 DOI: 10.1016/S0896-6273(00)80145-2]
19 Kiselyov K, Xu X, Mozhayeva G, Kuo T, Pessah I, Mignery G, Zhu X, Birnbaumer L, Muallem S. Functional interaction between InsP3 receptors and store-operated Htrp3 channels. *Nature* 1998; 396: 478-482 [PMID: 9853757 DOI: 10.1038/24890]
20 Trost C, Bergs C, Himmerkus N, Flockerzi V. The transient receptor potential, TRP4, cation channel is a novel member of the family of calmodulin binding proteins. *Biochem J* 2001; 355: 663-670 [PMID: 11311128]
21 Kim BJ, So I, Kim KW. The relationship of TRP channels to the pacemaker activity of interstitial cells of Cajal in the gastrointestinal tract. *J Smooth Muscle Res* 2006; 42: 1-7 [PMID: 16702759 DOI: 10.1540/jsmr.42.1]
22 Chen H, Ordög T, Chen J, Young DL, Bardsley MR, Redelman D, Ward SM, Sanders KM. Differential gene expression in functional classes of interstitial cells of Cajal in murine small intestine. *Physiol Genomics* 2007; 31: 492-509 [PMID: 17895395 DOI: 10.1152/physiolgenomics.00113.2007]
23 Furuzono S, Ohya S, Inoue S, Nakao A, Imaizumi Y, Nakayama S. Inherent pacemaker function of duodenal GIST. *Eur J Cancer* 2006; 42: 243-248 [PMID: 16343893 DOI: 10.1016/j.ejca.2005.09.024]
24 Ward SM, Beckett EA, Wang X, Baker F, Khoyi M, Sanders KM. Interstitial cells of Cajal mediate cholinergic neurotransmission from enteric motor neurons. *J Neurosci* 2000; 20: 1393-1403 [PMID: 10662830]
25 Beckett EA, Horiguchi K, Khoyi M, Sanders KM, Ward SM. Loss of enteric motor neurotransmission in the gastric fundus of Sl/Sl(d) mice. *J Physiol* 2002; 543: 871-887 [PMID: 12231645 DOI: 10.1113/jphysiol.2002.021915]
26 Beckett EA, McGeough CA, Sanders KM, Ward SM. Pacing of interstitial cells of Cajal in the murine gastric antrum: neurally mediated and direct stimulation. *J Physiol* 2003; 553: 545-559 [PMID: 14500772 DOI: 10.1113/jphysiol.2003.050419]
27 Suzuki H, Ward SM, Bayguinov YR, Edwards FR, Hirst GD. Involvement of intramuscular interstitial cells in nitrergic inhibition in the mouse gastric antrum. *J Physiol* 2003; 546: 751-763 [PMID: 12563001 DOI: 10.1113/jphysiol.2002.033365]
28 Ward SM, Sanders KM. Interstitial cells of Cajal: primary targets of enteric motor innervation. *Anat Rec* 2001; 262: 125-135 [PMID: 11146435 DOI: 10.1002/1097-0185(20010101)262:1<125::AID-AR1017>3.0.CO;2-I]
29 Kim TW, Koh SD, Ordög T, Ward SM, Sanders KM. Muscarinic regulation of pacemaker frequency in murine gastric interstitial cells of Cajal. *J Physiol* 2003; 546: 415-425 [PMID: 12527728 DOI: 10.1113/jphysiol.2002.028977]
30 McKay CM, Huizinga JD. Muscarinic regulation of ether-a-go-go-related gene K+ currents in interstitial cells of Cajal. *J Pharmacol Exp Ther* 2006; 319: 1112-1123 [PMID: 16946103 DOI: 10.1124/jpet.106.109322]

编辑 田滢 电编 闫晋利

世界华人消化杂志 2013年4月8日; 21(10): 851-857
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

Foxp3在乙型肝炎病毒相关性肾炎肾组织中的表达及其意义

詹欣宇, 肖 琳, 张泽高, 银 皓, 鲁晓擘, 张跃新

詹欣宇, 肖琳, 张泽高, 银皓, 鲁晓擘, 张跃新, 新疆医科大学第一附属医院感染科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054
詹欣宇, 硕士, 主要从事慢性肝病及乙型肝炎相关性肾炎的临床研究.
新疆医科大学第一附属医院科研奖励基金资助项目
新疆维吾尔自治区重点学科(内科学)经费(传染病学学科建设专项基金)资助项目, No. 2004-2009
作者贡献分布: 此课题由肖琳与詹欣宇设计; 肖琳负责审校; 标本收集由詹欣宇完成; 研究过程与数据分析由詹欣宇、张泽高及银皓完成; 分析工具由鲁晓擘与张跃新提供; 本论文写作由詹欣宇完成.
通讯作者: 肖琳, 主任医师, 830054, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市鲤鱼山路137号, 新疆医科大学第一附属医院感染科. xiaolin1220@yahoo.com.cn
收稿日期: 2013-01-30 修回日期: 2013-02-27
接受日期: 2013-03-14 在线出版日期: 2013-04-08

Significance of expression of forkhead/winged helix transcription factor in HBV-associated glomerulonephritis

Xin-Yu Zhan, Lin Xiao, Ze-Gao Zhang, Hao Yin, Xiao-Bo Lu, Yue-Xin Zhang

Xin-Yu Zhan, Lin Xiao, Ze-Gao Zhang, Hao Yin, Xiao-Bo Lu, Yue-Xin Zhang, Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Supported by: the Science and Technology Research Fund Awarded by the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University; and the Key Subject (Internal Medicine) Fund of Xinjiang Uygur Autonomous Region (Special Fund for Infectious Disease Discipline Construction), No. 2004-2009
Correspondence to: Lin Xiao, Chief Physician, Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, 137 Liyushan Road, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. xiaolin1220@yahoo.com.cn
Received: 2013-01-30 Revised: 2013-02-27
Accepted: 2013-03-14 Published online: 2013-04-08

Abstract

AIM: To investigate the expression and possible role of forkhead/winged helix transcription factor (Foxp3) in the kidney tissue of patients with hepatitis B virus-associated glomerulonephritis (HBV-GN).

METHODS: Patients who were pathologically diagnosed by renal biopsy were divided into three groups. Group A had HBV-GN (n = 58), group B had HBsAg-negative nephritis (n = 52), and group C consisted of HBV controls (n = 24), whose serum was HBsAg-positive, renal tissue HBsAg-negative and creatinine slightly elevated but without renal lesion. Immunohistochemistry was utilized to detect the expression of Foxp3 protein in kidney tissue of patients.

RESULTS: (1) There was no significant difference in age (F = 1.02, P = 0.36), gender (χ^2 = 1.09, P = 0.57), ethnicity composition (χ^2 = 0.04, P = 0.98), serum creatinine (F = 0.05, P = 0.61), or alanineaminotransferase (F = 0.06, P = 0.76) among the three groups. However, there was a statistical difference between group A and group B in urine protein (> 0.3 g/24 h); (2) There was no significant difference in pathological type between groups A and B (χ^2 = 1.08, P = 0.99); however, the extent of tubular interstitial injury (χ^2 = 9.15, P = 0.027) was more serious in group A; (3) Foxp3, CD4, and CD25 proteins were expressed mainly in the tubulointerstitial tissue. There were significant differences in the number of Foxp3$^+$ lymphocyte, CD4$^+$ T cells and CD25$^+$ T cells per high-power field between group A and group B (3.41 ± 1.16 *vs* 3.52 ± 1.27; 3.12 ± 0.17 *vs* 2.78 ± 0.15; 2.9 ± 0.2 *vs* 3.09 ± 0.18, all P < 0.05). The numbers of Foxp3$^+$ lymphocyte, CD4$^+$ T cells, and CD25$^+$ T cells per high-power field in groups A and B were significantly lower than those in group C (all P < 0.05).

CONCLUSION: The occurrence and development of HBV-GN may be related to reduced expression of Foxp3 in regulatory T cells.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Forkhead/winged helix transcription factor; Foxp3; Hepatitis B virus-associated glomerulonephritis/HBV-GN; Pathogenesis

Zhan XY, Xiao L, Zhang ZG, Yin H, Lu XB, Zhang YX. Significance of expression of forkhead/winged helix transcription factor in HBV-associated glomerulonephritis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(10): 851-857 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/851.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i10.851

■背景资料
CD4$^+$CD25$^+$调节性T细胞(Treg)是一群能抑制其他免疫细胞活化、增殖的T淋巴细胞, 其在维持自身内环境稳定, 防止自身免疫性疾病的发生、抑制移植排斥反应等疾病中发挥重要的保护作用, 其数量和功能的降低与多种自身免疫性疾病有关. Foxp3又称叉状头/翅膀状螺旋转录因子, 是目前确定为最特异的Treg细胞分子标记而用于当前研究, 亦是其发育和功能的关键分子.

■同行评议者
郭炜, 教授, 河北医科大学第四医院, 河北省肿瘤研究所病理研究室

■研发前沿
关于Foxp3, 最近研究的热点是Foxp3在恶性肿瘤、自身免疫性疾病、感染性疾病、移植排斥反应的发生、发展中的作用及通过抑制或增加其表达等手段达到可能的免疫治疗效果.

摘要

目的: 研究叉状头/翅膀状螺旋转录因子(Foxp3)在乙型肝炎病毒相关性肾炎(HBV-GN)肾组织中的表达及其意义.

方法: 所有病例经肾组织活检病理诊断. 分组: A组为乙型肝炎相关性肾炎组(n = 58); B组为非乙型肝炎肾炎组(n = 52); C组为HBV感染对照组(n = 24), 患者血清HBsAg阳性、肾组织中HBsAg阴性, 血清肌酐轻度升高经肾组织活检排除肾炎. 利用免疫组织化学法检测3组患者肾组织Foxp3、CD4、CD25蛋白表达情况.

结果: (1)A、B、C 3组患者在年龄(F = 1.02, P = 0.36)、性别(χ^2 = 1.09, P = 0.57)、民族构成(χ^2 = 0.04, P = 0.98)、血清肌酐(F = 0.05, P = 0.61)、谷丙转氨酶(F = 0.06, P = 0.76)等方面差异均无统计学意义; 但A组与B组尿蛋白(>0.3 g/24 h)差异有统计学意义(P<0.05); (2)A组和B组病理类型构成比较差异无统计学意义(χ^2 = 1.08, P = 0.99), 但肾小管间质损伤程度比较差异有统计学意义(χ^2 = 9.15, P = 0.027), 且A组肾小管间质损伤程度较B组重; (3)Foxp3、CD4、CD25蛋白主要表达于肾小管间质; 在A组与B组肾小管间质中, 每高倍镜视野下Foxp3$^+$淋巴细胞、CD4$^+$ T细胞、CD25$^+$ T细胞数分别为(3.41±1.16) *vs* (3.52±1.27); (2.78±0.15) *vs* (3.12±0.17); (2.90±0.20) *vs* (3.09±0.18), 均明显低于C组Foxp3$^+$淋巴细胞数、CD4$^+$ T细胞、CD25$^+$ T细胞数(均P<0.05); A组与B组比较, 差异有统计学意义(P<0.05), A组中, Foxp3、CD4、CD25的表达低于B组.

结论: 调节性T细胞Foxp3表达水平的下调可能与乙型肝炎病毒相关性肾炎的发生发展有关.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 叉状头/翅膀状螺旋转录因子; Foxp3; 乙型肝炎病毒相关性肾炎; 发病机制

核心提示: 乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染的肝外表现日益备受重视, 并且这种肝外表现的范围在不断扩大. 乙型肝炎相关性肾炎(HBV-GN)是其中最常见的疾病, 然而至今为止, 对HBV-GN的发病机制尚未取得共识. 对此, 我们进行了一项临床研究, 结果显示Foxp3主要表达于HBV-GN的肾小管间质, 半定量分析结果表明, 每高倍镜视野下的平均Foxp3$^+$淋巴细胞计数. 显著低于对照组, 因此, 我们推测HBV-GN的发生发展可能与Foxp3的表达下调有关.

詹欣宇, 肖琳, 张泽高, 银皓, 鲁晓擘, 张跃新. Foxp3在乙型肝炎病毒相关性肾炎肾组织中的表达及其意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(10): 851-857 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/851.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i10.851

0 引言

乙型肝炎病毒相关性肾炎是乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染引起的肾脏损伤, 发病隐匿, 常为临床医师和患者所忽视, 目前其发病机制仍不清楚, HBV感染导致机体免疫功能失衡、诱发自身免疫损伤被认为可能是其发病机制之一. 调节性T细胞(regulatory T cell, Treg)是确定的一类具有免疫调节功能的T细胞亚群, 他的发育和功能维持构成了周围淋巴器官中形成免疫耐受的重要机制, 若其发育和功能失调, 则会导致一系列疾病的发生, 包括自身免疫性疾病、炎症反应、急慢性传染性疾病、肿瘤免疫耐受、移植排斥以及过敏性疾病[1,2]. Treg细胞有很多亚群, 其中CD4$^+$CD25$^+$ Treg细胞是目前研究最多的, 具有明确的免疫抑制功能, 在抑制自身反应性T细胞增殖, 维持免疫稳定方面起着重要亚群的作用. 该细胞数量的减少, 表面分子表达的缺陷, 抑制功能的受损, 都可能导致自身免疫性疾病、爆发性肝炎或移植排斥反应等的发生[3]. Foxp3又称叉状头/翅膀状螺旋转录因子, 是目前确定为最特异的Treg细胞分子标记而用于当前研究, 亦是其发育和功能的关键分子[4,5]. 研究表明[6], Foxp3$^+$CD4$^+$CD25$^+$ Treg细胞是自然免疫中调节自身耐受的关键细胞, 与多种免疫损伤性疾病的发病有关. Brunkow等[7]在2001年的研究中报道通过高通量基因组序列分析的方法发现Foxp3基因是决定CD4$^+$CD25$^+$ Treg的重要转录因子. Onishi等[8]报道当Foxp3缺失、表达的下调或者Foxp3基因发生突变时, 人和动物都会产生严重的自身免疫性疾病. 本研究旨在通过观察Foxp3$^+$淋巴细胞、CD4$^+$ T细胞、CD25$^+$ T细胞在肾组织中的表达, 揭示Treg在乙型肝炎病毒相关性肾炎发病机制中的作用.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2009-01/2011-11在新疆医科大学第一附属医院行肾组织活检、病例资料完整的患者134例为研究对象, 根据病理诊断分为3组: A组58例患者肾组织活检诊断为乙型肝炎病毒相关性肾炎, 为乙型肝炎相关性肾炎组; B组52例患者肾组织活检证实为肾炎但血清及肾

表 1 3组患者一般资料及实验室检测指标比较 (mean ± SD)

	A组	B组	C组	*F*值/χ^2值	*P*值
n	58	52	24		
年龄(岁)	26.7 ± 10.3	24.5 ± 5.5	27.8 ± 17.1	1.02	0.36
男*n*(%)	40(68.9)	32(61.6)	14(58.3)	1.09	0.57
汉族*n*(%)	50(86.2)	45(86.5)	21(87.5)	0.04	0.98
谷丙转氨酶(U/L)	31.23 ± 12.12	34.37 ± 10.23	28.17 ± 9.14	0.06	0.76
尿蛋白>0.3 g/24 h	53(91.4%)	40(78.1%)[a]	–	6.108	0.017
血清肌酐(μmol/L)	38.9 ± 16.2	41.3 ± 14.4	37.7 ± 19.8	0.50	0.61

[a]*P*<0.05 *vs* A组. A组: 乙型肝炎相关性肾炎组; B组: 非乙型肝炎肾炎组; C组: 乙型肝炎病毒感染对照组.

组织中HBsAg均阴性, 为非乙型肝炎肾炎组, C组24例患者血清HBsAg阳性、肾组织中HBsAg阴性, 血清肌酐轻度升高经肾组织活检排除肾炎, 为HBV感染对照组. HBV-GN诊断标准参照1989年在北京座谈会上制定的诊断意见. 所有入选患者排除狼疮性肾炎、糖尿病肾病、肿瘤相关性肾病等继发性肾损伤. 试剂: 浓缩型鼠抗人Foxp3单克隆抗体(236A/E7)、鼠抗人CD4单克隆抗体、鼠抗人CD25单克隆抗体均购自美国eBionscience公司, 工作液滴度1∶100.

1.2 方法

1.2.1 临床资料: 临床资料包括姓名、性别、民族、年龄、谷丙转氨酶、血肌酐、24 h尿蛋白定量、临床类型等一般资料, 以及肾穿刺病理报告资料. 石蜡标本进行4 μm连续切片, 病理常规染色, Foxp3、CD4、CD25免疫组织化学染色. 病理分型参照1995年WHO修订的肾小球病理分型标准, 包括膜性肾病(membranous nephropathy, MN), 膜增殖性肾小球肾炎(membrano-proliferativeglomerulonephritis, MPGN), IgA肾病(IgA nephropathy, IgAN), 系膜增生性肾小球肾炎(mesangialproliferativeglomerulonephritis, MsPGN), 肾小球微小病变(minimal change disease, MCD), 局灶节段硬化性肾炎(primary focal segmental glomerulosclerosis, FsGs), 局灶系膜增生性肾小球肾炎, 增生硬化性肾病. 肾小管损伤程度参照肾小管-间质各项病理参数的半定量积分Katafuchi积分法: 包括间质性炎性细胞浸润(0-3分)、间质纤维化(0-3分)、肾小管萎缩(0-3分), 轻度损伤(1-3分), 中度损伤(4-6分), 重度损伤(7-9分).

1.2.2 方法: 免疫组织化学二步法Envision system, 即用型二抗购自上海长岛生物技术有限公司. 免疫组织化学染色: 采用Envision二步法进行免疫组织化学染色. 常规脱蜡, 柠檬酸钠缓冲液热抗原、H_2O_2阻断过氧化物酶、DAB显色剂显色、镜下观察、至棕色阳性结果出现即用水洗、苏木素复染、水洗、吹干、树胶封片、显微镜下观察结果. 计数光镜下观察阳性细胞呈棕黄色, 染色明显高于背景. 细胞核染色成黄色或棕黄色颗粒为Foxp3、CD4、CD25阳性染色. $Foxp3^+$、$CD4^+$、$CD25^+$淋巴细胞计数: 每个样本随机计数5个高倍(×400)视野的阳性细胞数, 根据阳性细胞显色的比例及染色的强度做半定量判断.

统计学处理 所有数据使用SPSS17.0软件进行统计学处理. 两样本均数之间的比较采用*t*检验; 多样本均数之间的比较采用单因素方差分析; 计数资料采用χ^2检验和Fisher's精确检验.

2 结果

2.1 一般资料 A组男40例, 女18例, 汉族50例, 维吾尔族8例, 平均年龄26.7岁±10.3岁, 临床上以肾病综合征为主要表现者有27例(46.6%), 以肾炎综合征为主要表现者有24例(41.4%); B组男32例, 女20例, 汉族45例, 维吾尔族7例, 平均年龄为24.5岁±5.5岁, 以肾病综合征为主要表现者占26例(50%), 肾炎综合征者21例(40.4%); C组女10例, 男14例, 汉族21例, 维吾尔族3例, 平均年龄为27.8岁±17.1岁, 3组患者年龄、性别、民族构成比较差异均无统计学意义(F = 1.02, P = 0.36; χ^2 = 1.09, P = 0.57; χ^2 = 0.04, P = 0.98, 表1).

2.2 实验室检查 3组患者血清肌酐比较差异无统计学意义(F = 0.05, P = 0.61). 但A组与B组尿蛋白(>0.3 g/24 h)比较差异有统计学意义(P<0.05, 表1).

2.3 病理类型 A组和B组在病理类型构成上差异无统计学意义(χ^2 = 1.086, P = 0.99), 但其肾小管

■相关报道

Luo等报道, 通过在体外特异性扩增$Foxp3^+$ Treg, 然后重新输回患者体内也可以实现免疫内环境的重建, 从而达到治疗自身免疫性疾病的目的.

■创新盘点

本研究首次应用免疫组织化学法检测乙型肝炎肾组织中Foxp3、CD4、CD25的表达，以探讨Foxp3在乙型肝炎相关性肾炎发生过程中的作用，发现Foxp3表达水平的下调与乙型肝炎相关性肾炎的发生发展有关.

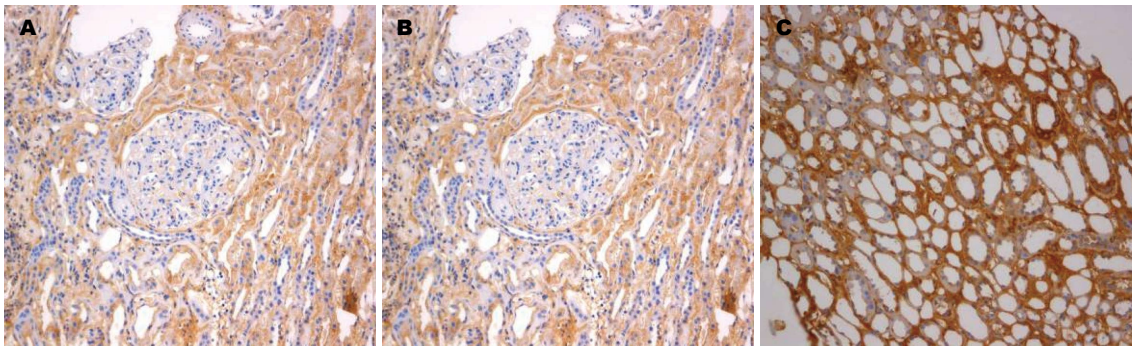


图 1 Foxp3在肾小管间质中的表达(×200). A: 乙型肝炎相关性肾炎组; B: 非乙型肝炎肾炎组; C: 乙型肝炎病毒感染对照组.

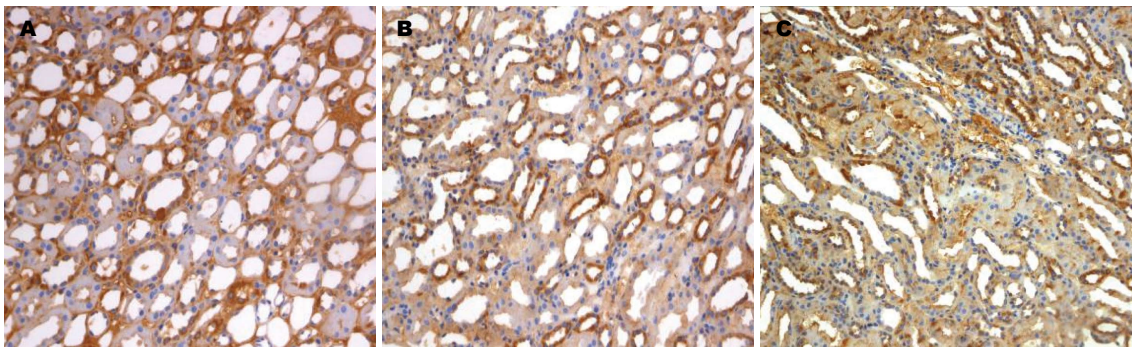


图 2 CD4在肾小管间质中的表达(×200). A: 乙型肝炎相关性肾炎组; B: 非乙型肝炎肾炎组; C: 乙型肝炎病毒感染对照组.

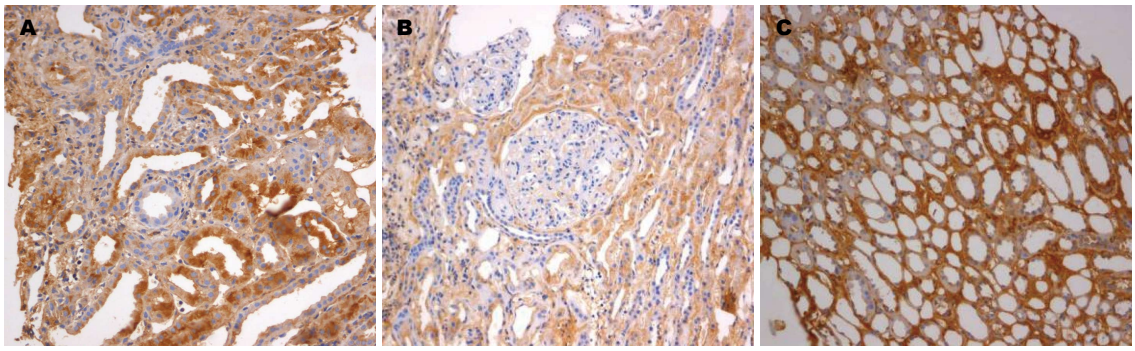


图 3 CD25在肾小管间质中的表达(×200). A: 乙型肝炎相关性肾炎组; B: 非乙型肝炎肾炎组; C: 乙型肝炎病毒感染对照组.

间质损伤程度上差异有统计学意义(χ^2 = 9.15, P = 0.027, 表2).

2.4 Foxp3$^+$淋巴细胞、CD4$^+$ T细胞、CD25$^+$ T细胞在肾组织的表达与分布 Foxp3$^+$淋巴细胞、CD4$^+$ T细胞、CD25$^+$ T细胞主要在肾小管间质中表达, 乙型肝炎相关性肾炎组(A组)、非乙型肝炎肾炎组(B组)、HBV感染对照组(C组)均可见阳性表达细胞(图1-3).

2.5 Foxp3$^+$淋巴细胞、CD4$^+$ T细胞、CD25$^+$ T细胞半定量分析结果 对Foxp3$^+$淋巴细胞、CD4$^+$ T细胞、CD25$^+$ T细胞免疫组织化学染色切片进行半定量统计分析, 400倍光学显微镜下随机取5个视野进行阳性细胞计数和细胞总数计数, 取其平均数用于统计分析. Foxp3、CD4、CD25在3组患者肾组织中表达差异有统计学意义(F = 23.00, P = 0.00), 乙型肝炎相关性肾炎组、非乙型肝炎肾炎组表达明显低于HBV感染对照组(P<0.01); Foxp3、CD4、CD25在乙型肝炎相关性肾炎组和非乙型肝炎肾炎组间比较, 差异均有统计学意义(P<0.05), 乙型肝炎相关性肾炎组中, 其表达低于非乙型肝炎肾炎组(表3).

3 讨论

CD4$^+$CD25$^+$ Treg细胞主要在机体免疫系统中发挥负向调节作用, 对效应细胞的增殖, 免疫活性的发挥起抑制作用. 转录因子Foxp3特异性

表 2 A组患者与B组患者病理类型构成及肾小管损伤程度比较 *n*(%)

	A组	B组	χ^2值	*P*值
病理类型			1.086	0.99
膜性肾病	20(34.48)	18(34.62)		
膜增殖性肾小球肾炎	9(15.52)	8(15.38)		
IGA肾病	6(10.34)	7(13.46)		
系膜增生性肾小球肾炎	13(22.42)	10(19.23)		
肾小球微小病变	5(8.62)	4(7.69)		
局灶节段硬化性肾炎	1(1.72)	2(3.85)		
局灶系膜增生性肾小球肾炎	2(3.45)	1(1.92)		
增生硬化性肾病	2(3.45)	2(3.85)		
肾小管间质损伤程度			9.15	0.027
轻度损伤	22(37.93)	20(38.46)		
中度损伤	23(39.66)	11(21.15)		
重度损伤	4(6.89)	1(1.92)		
无肾小管损伤	9(15.52)	20(38.47)		

A组: 乙型肝炎相关性肾炎组; B组: 非乙型肝炎肾炎组; C组: 乙型肝炎病毒感染对照组.

表 3 Foxp3、CD24、CD25在3组患者肾组织中表达比较 (mean ± SD)

分组	*n*	Foxp3$^+$淋巴细胞	CD4$^+$ T细胞	CD25$^+$ T细胞	*F*值	*P*值
A组	58	3.41 ± 1.16^{bc}	2.78 ± 0.15^{bc}	2.90 ± 0.20^{bc}	23	0.000
B组	52	3.52 ± 1.27^{b}	3.12 ± 0.17^{b}	3.09 ± 0.18^{b}		
C组	24	5.73 ± 2.12	5.25 ± 0.25	5.90 ± 0.35		

$^{b}P < 0.01$ *vs* C组; $^{c}P < 0.05$ *vs* B组. A组: 乙型肝炎相关性肾炎组; B组: 非乙型肝炎肾炎组; C组: 乙型肝炎病毒感染对照组.

■应用要点

Foxp3可能在乙型肝炎相关性肾炎的发生过程中起重要的作用, 可能对其诊断及早期治疗具有重要的临床意义.

地高表达于CD4$^+$CD25$^+$ Treg细胞内, Foxp3为CD4$^+$CD25$^+$ Treg细胞特异性分子标志[9], 是Treg细胞发育和功能所必需[10], 能反映Treg的水平和功能活性, 目前被作为证实Treg的金标准. 有研究表明[11], Foxp3是人天然Treg维持其抑制性功能的核心细胞内标志, 主要通过基因转录水平下调促炎因子的表达, 上调免疫抑制因子的表达, 从而抑制机体免疫功能. 据报道, Foxp3$^+$ Treg调节免疫抑制的机制是通过对效应性T细胞及抗原提呈细胞的抑制作用而体现. 有学者研究[12]显示, Treg细胞通过与效应性T细胞竞争消耗IL-2从而达到抑制Foxp3$^-$效应性T细胞的增殖, 并通过前凋亡因子Bim介导的途径诱导效应性T细胞的凋亡. 此外, Treg细胞表面还可表达细胞毒性T淋巴细胞相关抗原(cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4, CTLA-4), 该分子是Treg表达的重要分子标记, 高水平表达CTLA-4的Treg可以通过CTLA-4和CD80以及CD86的相互作用促使DC表达吲哚胺2,3双加氧酶(indoleamine 2,3-dioxygenase, IDO). IDO能降解色氨酸, 色氨酸缺失会抑制T细胞活化, 从而导致T细胞凋亡[13]. 研究报道[14]Treg细胞还可分泌纤维蛋白原样蛋白2, 该分子可通过与低亲和力的FCγRⅡB受体结合抑制DC的成熟, 诱导B细胞的凋亡[15], 从而起到免疫抑制的效果. 当机体内Foxp3表达下降时, 提示CD4$^+$CD25$^+$ Treg细胞数量的减少或功能的减弱, 从而导致自身免疫性疾病的发生. 王玮玮等[16]在BXSB狼疮小鼠动物实验中发现, Treg细胞数量的减少与狼疮肾炎肾小管间质损害相关. 机体内百分之一的Treg细胞水平的下降会导致自身免疫性疾病的发生发展[17]. 有研究[18]表明, 诱导SWR×NZBF1(SNF1)小鼠黏膜免疫耐受后, 小鼠的CD4$^+$CD25$^+$ Treg细胞数目可恢复至正常水平, 且随之肾小球肾炎的症状与病理改变可得到显著的改善. 认为Treg细胞的减少可能是疾病活动导致HBV-GN肾小管损害的原因之一.

本研究发现, 乙型肝炎相关性肾炎组和非乙

■同行评价
本文选题新颖，方法科学，结果可靠，论据充分，对乙型肝炎相关性肾炎发病机制的研究有重要的参考价值.

型肝炎肾炎组肾组织Foxp3的表达明显低于无肾炎的HBV感染对照组, 同时CD4、CD25的表达亦明显低于无肾炎的HBV感染对照组, 此研究结果支持Foxp3表达水平的下降与$CD4^+CD25^+$ Treg细胞数量的减少有关这一观点, 也表明Treg细胞的减少可能是肾炎的发病机制之一, 支持免疫功能失调参与乙型肝炎相关性肾炎的发生, 通过诱导Foxp3表达水平的下调, 导致自身免疫损伤. 本研究中Foxp3 、CD4、CD25在乙型肝炎相关性肾炎组中肾小管间质中的表达低于非乙型肝炎肾炎组, 结合两者病理资料: 乙型肝炎相关性肾炎组肾小管间质损伤程度较非乙型肝炎肾炎组为重, 24 h尿蛋白比较, 亦支持这一结果, 分析原因考虑乙型肝炎相关性肾炎肾损伤有多种致病机制共同作用, 除了经典的抗原抗体复合物沉积于肾小球毛细血管基底膜导致肾脏损伤、乙型肝炎病毒直接损伤, 还存在自身免疫性损伤. 因此乙型肝炎相关性肾炎的早期诊断非常重要, 抗乙型肝炎病毒治疗是不可忽视的方案之一. 在HBV感染对照组中Foxp3表达水平无下降, 也未发生乙型肝炎相关性肾炎, 认为其可能与遗传易感性有关.

在HBV-GN的发病过程中, 大量的研究表明, $CD8^+$CTL介导的穿孔素途径, 可能在引起肾脏损害中起一定的作用. 穿孔素是免疫活化细胞杀伤靶细胞的主要介质, 是存在于CTL和NK细胞胞浆颗粒中的细胞毒素, 可介导$CD8^+$CTL特异的细胞毒效应, 引起感染细胞损伤和死亡[19]. 有研究表明[20], 穿孔素主要在HBV-GN患者的肾小管间质中表达, Treg可抑制$CD4^+$、$CD8^+$ T细胞活性及其增殖能力[21], 本研究显示Foxp3在HBV-GN肾小管间质中表达下降, 认为可能削弱了对$CD8^+$CTL T细胞的抑制功能, 进一步通过$CD8^+$CTL介导的穿孔素途径造成肾小管间质的损伤, 有待于后续实验的进一步证实.

本研究结果表明Treg Foxp3的表达下调可能与乙型肝炎病毒相关性肾炎的发生发展有关, HBV-GN可能是由于HBV感染引起T细胞免疫耐受调节功能失衡所致的免疫系统紊乱性疾病.

4 参考文献

1 Sakaguchi S, Yamaguchi T, Nomura T, Ono M. Regulatory T cells and immune tolerance. *Cell* 2008; 133: 775-787 [PMID: 18510923 DOI: 10.1016/j.cell.2008.05.009]
2 Littman DR, Rudensky AY. Th17 and regulatory T cells in mediating and restraining inflammation. *Cell* 2010; 140: 845-858 [PMID: 20303875 DOI: 10.1016/j.cell.2010.02.021]
3 Fiocco U, Sfriso P, Oliviero F, Pagnin E, Scagliori E, Campana C, Dainese S, Cozzi L, Punzi L. Co-stimulatory modulation in rheumatoid arthritis: the role of (CTLA4-Ig) abatacept. *Autoimmun Rev* 2008; 8: 76-82 [PMID: 18718877 DOI: 10.1016/j.autrev.2008.07.035]
4 Sakaguchi S. Naturally arising Foxp3-expressing CD25+CD4+ regulatory T cells in immunological tolerance to self and non-self. *Nat Immunol* 2005; 6: 345-352 [PMID: 15785760 DOI: 10.1038/ni1178]
5 Fontenot JD, Rudensky AY. A well adapted regulatory contrivance: regulatory T cell development and the forkhead family transcription factor Foxp3. *Nat Immunol* 2005; 6: 331-337 [PMID: 15785758 DOI: 10.1038/ni1179]
6 Lai FM, To KF, Wang AY, Choi PC, Szeto CC, Li PK, Leung CB, Lai KN. Hepatitis B virus-related nephropathy and lupus nephritis: morphologic similarities of two clinical entities. *Mod Pathol* 2000; 13: 166-172 [PMID: 10697274 DOI: 10.1038/modpathol.3880031]
7 Brunkow ME, Jeffery EW, Hjerrild KA, Paeper B, Clark LB, Yasayko SA, Wilkinson JE, Galas D, Ziegler SF, Ramsdell F. Disruption of a new forkhead/winged-helix protein, scurfin, results in the fatal lymphoproliferative disorder of the scurfy mouse. *Nat Genet* 2001; 27: 68-73 [PMID: 11138001 DOI: 10.1038/83784]
8 Onishi Y, Fehervari Z, Yamaguchi T, Sakaguchi S. Foxp3+ natural regulatory T cells preferentially form aggregates on dendritic cells in vitro and actively inhibit their maturation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 10113-10118 [PMID: 18635688 DOI: 10.1073/pnas.0711106105]
9 Brunkow ME, Jeffery EW, Hjerrild KA, Paeper B, Clark LB, Yasayko SA, Wilkinson JE, Galas D, Ziegler SF, Ramsdell F. Disruption of a new forkhead/winged-helix protein, scurfin, results in the fatal lymphoproliferative disorder of the scurfy mouse. *Nat Genet* 2001; 27: 68-73 [PMID: 11138001]
10 福军亮, 徐东平, 施明, 张辉, 金辉, 汤紫荣, 王福生. 乙型肝炎患者外周血CD4+CD25+调节性T细胞表型与功能分析. 中华内科杂志 2006; 45: 642-645
11 孙磊, 易寿南, 陈丽. 下调FOXP3基因表达对人调节性T细胞功能的影响. 中华医学杂志 2011; 91: 2124-2128
12 Pandiyan P, Zheng L, Ishihara S, Reed J, Lenardo MJ. CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells induce cytokine deprivation-mediated apoptosis of effector CD4+ T cells. *Nat Immunol* 2007; 8: 1353-1362 [PMID: 17982458 DOI: 10.1038/ni1536]
13 Fallarino F, Grohmann U, Hwang KW, Orabona C, Vacca C, Bianchi R, Belladonna ML, Fioretti MC, Alegre ML, Puccetti P. Modulation of tryptophan catabolism by regulatory T cells. *Nat Immunol* 2003; 4: 1206-1212 [PMID: 14578884 DOI: 10.1038/ni1003]
14 Borsellino G, Kleinewietfeld M, Di Mitri D, Sternjak A, Diamantini A, Giometto R, Höpner S, Centonze D, Bernardi G, Dell'Acqua ML, Rossini PM, Battistini L, Rötzschke O, Falk K. Expression of ectonucleotidase CD39 by Foxp3+ Treg cells: hydrolysis of extracellular ATP and immune suppression. *Blood* 2007; 110: 1225-1232 [PMID: 17449799 DOI: 10.1182/blood-2006-12-064527]
15 Shalev I, Liu H, Koscik C, Bartczak A, Javadi M, Wong KM, Maknojia A, He W, Liu MF, Diao J, Winter E, Manuel J, McCarthy D, Cattral M, Gommerman J, Clark DA, Phillips MJ, Gorczynski RR, Zhang L, Downey G, Grant D, Cybulsky MI, Levy

G. Targeted deletion of fgl2 leads to impaired regulatory T cell activity and development of autoimmune glomerulonephritis. *J Immunol* 2008; 180: 249-260 [PMID: 18097026]
16 王玮炜, 黄安斌, 杜戎, 刘宇宏, 宋优, 沈凌汛, 余立凯. 叉状头/翅膀状螺旋转录因子在BXSB狼疮小鼠肾脏中的表达. 华中科技大学学报(医学版) 2011; 40: 567-570
17 Lan RY, Cheng C, Lian ZX, Tsuneyama K, Yang GX, Moritoki Y, Chuang YH, Nakamura T, Saito S, Shimoda S, Tanaka A, Bowlus CL, Takano Y, Ansari AA, Coppel RL, Gershwin ME. Liver-targeted and peripheral blood alterations of regulatory T cells in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2006; 43: 729-737 [PMID: 16557534 DOI: 10.1002/hep.21123]
18 Wu HY, Staines NA. A deficiency of CD4+CD25+ T cells permits the development of spontaneous lupus-like disease in mice, and can be reversed by induction of mucosal tolerance to histone peptide autoantigen. *Lupus* 2004; 13: 192-200 [PMID: 15119549 DOI: 10.1191/0961203303lu1002oa]
19 洪森, 王义国. 乙型肝炎病毒相关性肾炎的发病机制. 中国医药指南 2011; 9: 39-41
20 王湘, 赵英仁, 徐长福. 穿孔素在乙型肝炎相关性肾炎的表达及意义. 第四军医大学学报 2007; 28: 18-20
21 Stoop JN, van der Molen RG, Baan CC, van der Laan LJ, Kuipers EJ, Kusters JG, Janssen HL. Regulatory T cells contribute to the impaired immune response in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology* 2005; 41: 771-778 [PMID: 15791617 DOI: 10.1002/hep.20649]

编辑 李军亮 电编 闫晋利

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》正文要求

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2013年4月8日; 21(10): 858-864
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床研究 CLINICAL RESEARCH

基于去唾液酸糖蛋白受体的循环肝癌细胞磁性分选检测法及其改良

余 锋, 陈 磊, 徐 文, 曹 璐, 张 妤, 施乐华, 殷正丰

■背景资料
肿瘤转移是一个多阶段、多步骤的复杂过程. 存在于原发癌和转移癌之外的肿瘤细胞统称为游离肿瘤细胞(ITCs). 其中进入血流的又称循环肿瘤细胞(CTCs). 目前CTCs的临床意义在乳腺癌、结直肠癌、前列腺癌等多种肿瘤中逐渐得到肯定.

余锋, 陈磊, 徐文, 曹璐, 张妤, 施乐华, 殷正丰, 上海第二军医大学东方肝胆外科医院分子肿瘤实验室 上海市 200438
余锋, 中国人民解放军第101中心医院肝胆外科 江苏省无锡市 214044
余锋, 主治医师, 主要从事肝胆疾病的外科治疗.
国家863基金资助项目, No. 2007AA02Z461
国家科技重大专项基金资助项目, No. 2012ZX10002021
作者贡献分布: 此课题由余锋、施乐华及殷正丰设计; 研究过程由陈磊、徐文、曹璐及张妤操作完成; 研究所用试剂与实验材料由殷正丰提供; 数据分析由余锋完成; 本论文写作由余锋与殷正丰共同完成.
通讯作者: 殷正丰, 教授, 200438, 上海市杨浦区长海路225号, 上海第二军医大学东方肝胆外科医院分子肿瘤实验室.
yinzfk@yahoo.com.cn
收稿日期: 2013-01-22 修回日期: 2013-02-18
接受日期: 2013-03-15 在线出版日期: 2013-04-08

Detection of circulating tumor cells in patients with hepatocellular carcinoma using an improved asialoglycoprotein receptor-based separation method

Feng Yu, Lei Chen, Wen Xu, Lu Cao, Yu Zhang, Le-Hua Shi, Zheng-Feng Yin

Feng Yu, Lei Chen, Wen Xu, Lu Cao, Yu Zhang, Le-Hua Shi, Zheng-Feng Yin, Laboratory of Molecular Oncology, Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200438, China
Feng Yu, Department of Hepatobiliary Surgery, the 101st Hospital of Chinese People's Liberation Army, Wuxi 214044, Jiangsu Province, China
Supported by: National High-Tech Research and Development Program of China, No. 2007AA02Z461; China National Key Projects, No. 2012ZX10002021
Correspondence to: Zheng-Feng Yin, Professor, Laboratory of Molecular Oncology, Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital, the Second Military Medical University, 225 Changhai Road, Yangpu District, Shanghai 200438, China. yinzfk@yahoo.com.cn
Received: 2013-01-22 Revised: 2013-02-18
Accepted: 2013-03-15 Published online: 2013-04-08

Abstract

AIM: To introduce a novel magnetic cell separation system which allows for immunomorphological identification and enumeration of circulating tumor cells (CTCs) in patients with hepatocellular carcinoma (HCC).

METHODS: The asialoglycoprotein receptor (ASGPR) is a transmembrane protein expressed exclusively on the surface of hepatocytes. We have recently developed a sensitive and specific system mediated by the interaction of the ASGPR with its ligand to magnetically separate CTCs in HCC patients. In the system, HCC cells were bound by biotinylated asialofetuin, an ASGPR ligand, and subsequently labeled by anti-biotin antibody-coated magnetic beads, followed by magnetic separation. The separated HCC cells were then identified by immunofluorescence staining using the hepatocyte-specific antibody Hep Par 1. In this study, we used EDTA instead of heparin for anticoagulation because heparin could cause the presence of gels in cell suspension, which affected the passage of cells through the separation column and reduced the separation efficiency. The recovery, specificity and sensitivity of the HCC CTC separation and detection system were determined by performing Hep3B cell spiking experiments.

RESULTS: Calcium chelating agent EDTA was used for anticoagulation instead of heparin in some steps of the original method and gel phenomenon no longer appeared in the cell suspension. The cell spiking experiments showed that when there were 10, 30, 90, 270 and 810 Hep3B cells spiked into five milliliters of peripheral blood from healthy volunteers, the average recovery was ⩾ 70% at each spiking level and the recovery of the modified method was higher than that of the original method ($P < 0.05$).

CONCLUSION: We have developed a new tool that allows for highly sensitive and specific separation and detection of CTCs in HCC patients. It may be clinically useful for diagnosis and monitoring of HCC. The cell spiking experiments showed that the recovery of the modified method was higher than that of the original method.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Circulating tumor cells; Asialoglycoprotein receptor; Hepatocellular carcinoma

■同行评议者
斯坎德尔.白克力, 教授, 新疆医科大学基础医学院生物化学教研室

Yu F, Chen L, Xu W, Cao L, Zhang Y, Shi LH, Yin ZF. Detection of circulating tumor cells in patients with hepatocellular carcinoma using an improved asialoglycoprotein receptor-based separation method. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(10): 858-864 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/858.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i10.858

摘要

目的: 介绍一种肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs)富集和检测系统, 并对该系统进行改良, 以提高循环肿瘤细胞的检出率.

方法: 去唾液酸糖蛋白受体(asialoglycoprotein receptor, ASGPR)是一种特异表达于肝实质细胞膜的跨膜蛋白. 我们建立了一种基于ASGPR的磁性分选和Hep par 1免疫鉴定的循环肝癌细胞富集和计数系统. 首先以生物素化去唾液酸胎球蛋白作为配体与肝癌细胞结合, 然后用抗生物素抗体磁珠进行间接磁性标记, 从而磁性捕获循环肝癌细胞, 接着用Hep par 1进行免疫荧光染色鉴定, 并对阳性细胞进行计数. 文献报道和实际操作中发现, 检测过程中采用肝素抗凝会引起细胞悬液中出现凝胶, 影响细胞通过分离柱, 降低分离效率. 我们将部分步骤改用乙二胺四乙酸(ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA)替代肝素抗凝, 采用Hep3B肝癌细胞掺入试验对两种方法回收情况进行比较.

结果: 部分步骤改用EDTA抗凝后, 细胞悬液中未出现凝胶现象. 细胞掺入试验显示, 5 mL健康志愿者外周血中分别掺入10、30、90、270和810个Hep3B细胞, 在每个掺入水平, 改良法Hep3B细胞的平均回收率均≥70%, 回收效率明显增加(P<0.05).

结论: 基于ASGPR的循环肝癌细胞富集和计数系统是一种具有临床应用潜能的循环肝癌细胞检测方法. 经改良后能够有效消除细胞悬液中凝胶形成的现象, 肝癌细胞回收效率较原检测法明显提高.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 循环肿瘤细胞; 去唾液酸糖蛋白受体; 肝细胞癌

核心提示: 介绍并改良一种基于肝细胞膜表面去唾液酸糖蛋白受体的循环肝癌细胞富集和检测系统. 改良系统具有高度的敏感性和特异性. 该系统有望在肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的早期诊断、预测转移复发、疗效监测以及筛选HCC肝移植受者等方面得到临床应用. 并有可能成为一个重要的技术平台, 推动HCC临床应用研究和基础研究的进步.

余锋, 陈磊, 徐文, 曹璐, 张妤, 施乐华, 殷正丰. 基于去唾液酸糖蛋白受体的循环肝癌细胞磁性分选检测法及其改良. 世界华人消化杂志 2013; 21(10): 858-864 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/858.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i10.858

■**研发前沿**
现有的CTCs分离、检测技术方法较多, 美国Veridex公司研发的专有技术CellSearch™ System可自动分选从上皮性肿瘤上脱落后进入血液中的肿瘤细胞, 该技术已经FDA批准应用于预测转移性乳腺癌、前列腺癌和结直肠癌的无进展生存时间和总存活时间.

0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)患者体内的循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs), 即循环肝癌细胞, 是HCC转移和复发的根源. 检测循环肝癌细胞对于预测HCC转移复发具有重要临床意义[1]. 目前分离CTCs的标准方法是基于肿瘤细胞表面上皮性抗原的磁性激活细胞分选技术(magnetic-activated cell separation, MACS)[2]. 由于缺乏针对肝癌细胞表面特异性抗原的单克隆抗体, 迄今少见MACS用于分离循环肝癌细胞的报道. 基于上皮细胞黏附分子(epithelial cell adhesion molecule, EpCAM)抗体磁珠的CellSearch系统已被美国FDA批准用于检测乳腺癌、结肠癌和前列腺癌CTCs[3]. 尽管肝癌细胞属于上皮性细胞, 但EpCAM仅在约35%左右的HCC组织标本中表达[4-6]. 因此, CellSearch系统并不适合用于分离、检测循环肝癌细胞.

去唾液酸糖蛋白受体(asialoglycoprotein receptor, ASGPR)是一种特异表达于肝实质细胞膜的跨膜蛋白, 能结合和内吞以半乳糖基和N-乙酰半乳糖胺基为端基的分子[7]. 这一特性已被用于设计多种实验研究. 比如, 利用放射性核素标记这样的糖蛋白, 选择性地与肝细胞膜上的ASGPR相结合, 可以进行肝显像[8,9]; 而以这样的糖蛋白为载体将抗肿瘤药物、降胆固醇药物甚至治疗基因导向肝实质细胞, 则是药物肝靶向递送的一个重要研究命题[10,11]. 近期我们报道一种基于ASGPR的磁性分选和肝细胞特异性抗体Hep par 1免疫鉴定的循环肝癌细胞富集和计数系统[12], 即以生物素化去唾液酸胎球蛋白作为配体与肝癌细胞结合, 然后用抗生物素抗体磁珠进行间接磁性标记, 从而磁性捕获循环肝癌细胞, 接着用Hep par 1进行免疫荧光染色鉴定, 并对阳性细胞进行计数. 由于肝细胞通常不会脱落进入血循环, 除非演变成肿瘤细胞, 因此检测到的细胞即为循环肝癌细胞. 该系统解决了以前所报道方法的固有问题, 敏感性

■相关报道
近年来分子生物学技术的发展，使分离和计数外周血中的CTCS成为可能. CTCs可能是原发肿瘤基因和表型特征的最好的代表. 对外周血中的CTCS进行分离和鉴定可能适用于各种肿瘤的诊断，而且，CTCs可能将用于干预治疗决策的制定，并且可以作为分子靶向应用的靶标.

高, 特异性好. 临床病例检测结果显示, HCC患者CTCs阳性率和数目均与HCC进展程度成显著正相关.

该检测系统全程采用肝素抗凝, 但文献报道和实际操作中发现, Ficoll分离单个核细胞过程中采用肝素抗凝会引起细胞悬液中出现凝胶, 影响细胞通过分离柱, 降低分离效率[13]. 我们将部分步骤改用钙离子螯合剂乙二胺四乙酸(ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA)替代肝素抗凝. 因配体和ASGPR的结合是Ca^{2+}依赖的, 反应体系中必须有Ca^{2+}存在, 故在去唾液酸胎球蛋白与肝癌细胞孵育过程中加入Ca^{2+}, 以补充抗凝过程中EDTA结合的Ca^{2+}. 我们采用Hep3B肝癌细胞掺入试验对这两种方法的回收情况进行了比较.

1 材料和方法

1.1 材料 所有血液标本均在东方肝胆外科医院(上海)采集. 选取7个健康志愿者, 每人抽取5份外周静脉血, 每份5 mL, 用含EDTA的5 mL抗凝管(Greiner bio-one)替代BD Vacutainer®管收集. 标本保存于4 ℃, 并且在采集后6 h内处理. 研究方案获得东方肝胆外科医院伦理审查委员会批准, 每个志愿者均签署书面知情同意书. Ficoll-Paque PLUS购自GE公司(GE Healthcare, Picataway, Nj, USA); 生物素抗体磁珠(Miltenyi Biotec GmbH, Bergisch Gladbach, Germany); 50 mL离心管(Corning Inc., Corning, NY, USA); 离心涂片机(Wescor Inc. UT, USA); 小鼠抗人肝细胞单克隆抗体(anti-human hepatocyte, Hep Par 1; Dako, Copenhagen, Denmark); 大鼠抗人CD45单抗(Santa Cruz, CA, USA); Sulfo-NHS-LC-Biotin(Pierce, Rockford, IL, USA); 去唾液酸胎球蛋白(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA); 大鼠抗人CD45单抗(Santa Cruz, CA, USA); 兔抗小鼠-Alexa Fluor 647 IgG(Invitrogen, CA, USA); 兔抗大鼠-Alexa Fluor 488(Invitrogen, CA, USA); 抗荧光淬灭剂(Vector Laboratory, Burlingame, CA, USA); Olympus SZX直立反射显微镜(Olympus America); 5 mL抗凝管(Greiner bio-one).

1.2 方法

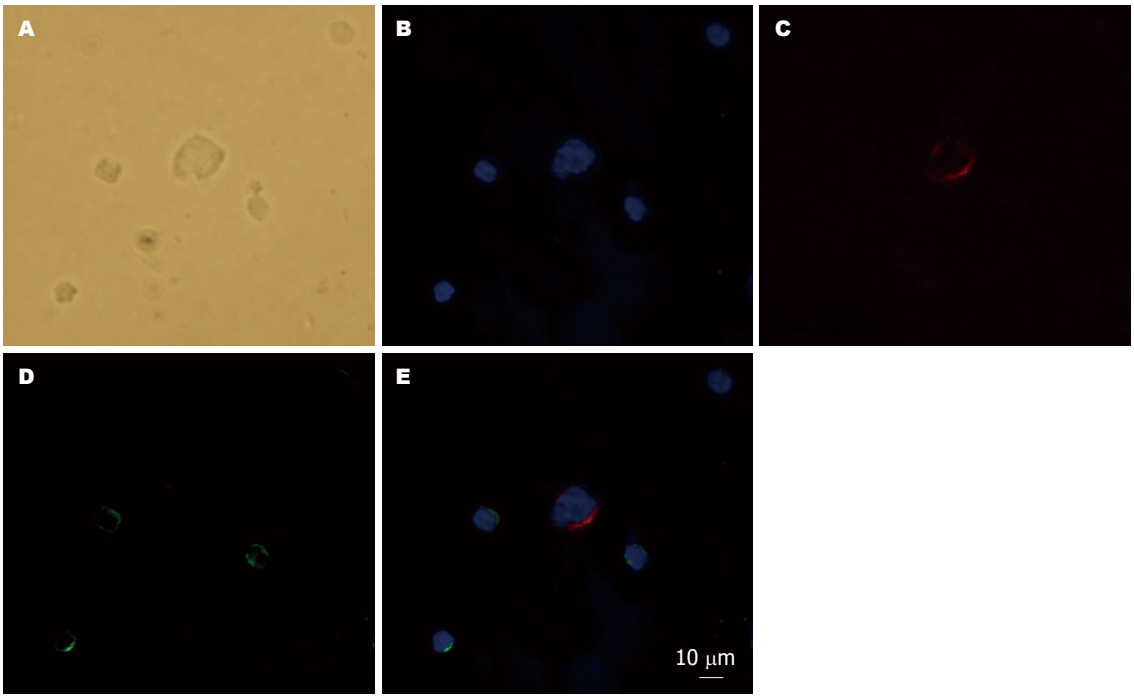
1.2.1 去唾液酸胎球蛋白的生物素化: 按照厂家说明书, 用Sulfo-NHS-LC-Biotin标记去唾液酸胎球蛋白, 并纯化. 具体方法如下: (1)称取2.0 mg氨基生物素化试剂Sulfo-NHS-lC-Biotin, 加入360 μL双蒸水中, 终浓度为10 mmol/L; (2)称取9.6 mg去唾液酸胎球蛋白, 溶解于2 mL双蒸水中; (3)加入40 μL 10 mmol/L的Sulfo-NHS-lC-Biotin; (4)冰上反应2 h; (5)将反应液移入离心超滤管, 25 ℃ 4 000 *g*, 离心20 min; (6)在离心管中加入双蒸水和*L*-赖氨酸, 使总体积为3 mL, *L*-赖氨酸终浓度为0.08 mg/mL, 室温放置0.5 h; (7)将离心超滤管于25 ℃ 4 000 *g*, 离心20 min; (8)吸出超滤管中残留液体, 加1 mL双蒸水稀释; (9)用BCA蛋白定量试剂盒按照说明书操作, 测定生物素化去唾液酸胎球蛋白浓度; (10)用双蒸水调整去唾液酸胎球蛋白浓度至所需浓度, 0.22 μm滤器无菌过滤后50 μL/管分装, -80 ℃保存备用.

1.2.2 单个核细胞富集: 根据厂家说明书, 从全血样本中分离单个核细胞(包括肿瘤细胞). 具体步骤如下: 5 mL全血与平衡盐溶液(NaCl溶液, 0.14 mol/L)等量混合, 仔细平铺于12 mL Ficoll-Paque PLUS分离液上, 400 *g*, 18 ℃, 于50 mL离心管中离心30 min. 然后收集单个核细胞层, 并用平衡盐溶液洗涤2次.

1.2.3 磁性标记: 将细胞与生物素化去唾液酸胎球蛋白充分混合, 加入2 mmol/L的氯化钙溶液200 μL, 于37 ℃孵育45 min. 稀释缓冲液洗涤2次, 用20 μL抗生物素抗体磁珠4 ℃作用15 min进行磁性标记, 然后将细胞用稀释缓冲液洗涤, 再用1 mL稀释缓冲液悬浮. 用稀释缓冲液平衡MS分离柱, 再使经磁性标记的细胞流经其中. 用稀释缓冲液(3×500 μL)将阴性细胞从分离柱中洗去. 然后将分离柱移开磁场, 用1 mL稀释缓冲液将残留在分离柱中的细胞快速冲出. 用离心涂片机将富集到的细胞组分在多聚赖氨酸玻片上制成细胞涂片, 37 ℃干燥15 min. 用4%甲醛固定15 min, 立刻进行免疫荧光染色, 或-80 ℃保存备用.

1.2.4 免疫荧光染色: 采用小鼠抗人肝细胞单克隆抗体鉴定肝癌细胞. 具体步骤: 用洗液(PBS-0.1% Tween 20)冲洗细胞片. 用含5%BSA的洗液孵育30 min封闭非特异结合位点. 然后用Hep Par 1单抗和大鼠抗人CD45单抗在湿盒中37 ℃孵育1 h. 再用兔抗小鼠-Alexa Fluor 647 IgG, 兔抗大鼠-Alexa Fluor 488作为二抗室温避光孵育30 min. 在经过4'6-diamidino-2-phenylindole(DAPI)染色后, 采用抗荧光淬灭剂封片.

1.2.5 CTCs鉴定和计数: 采用带自动扫描平台



■创新盘点

本文系统地解决了以前所报道方法的固有问题, 敏感性高, 特异性好. 临床病例检测结果显示, HCC患者CTCs阳性率和数目均与HCC进展程度呈显著正相关. 针对Ficoll分离单个核细胞过程中采用肝素抗凝会引起细胞悬液中出现凝胶, 影响细胞通过分离柱, 降低分离效率的问题. 我们将部分步骤改用EDTA替代肝素抗凝, 改良后的循环肝癌细胞分离/检测系统具有高度的敏感性和特异性.

图 1 从掺入Hep3B细胞的健康志愿者外周血样本中分离到的Hep3B肝癌细胞(HepPar 1抗体染色 × 400). A: Bright Field Image; B: DAP1; C: Hep Par 1; D: CD45; E: Merge.

(Prior Scientific)的Olympus SZX直立反射显微镜观察细胞片. 采用可编程的平台和Qcapture Pro软件(Media Cybernetics)对细胞片进行1 mm×1 mm方格自动扫描. 仔细分析捕获的图像, 并计数符合预定标准的细胞. 颜色、亮度和细胞大小、形状、核大小等形态学特征符合标准的细胞被认为是潜在的CTCs, 排除细胞碎片和非特异染色的细胞. Hep Par 1阳性、DAPI阳性、CD45阴性, 并且符合形态学特征的细胞记为CTCs. 细胞计数表述为每5 mL血液CTCs细胞数.

1.2.6 细胞掺入试验评价系统的回收率、敏感性和特异性: 抽取健康志愿者外周静脉血, 每份5 mL, 用含EDTA的5 mL抗凝管收集. 每个志愿者的5份血液中分别掺入约10、30、90、270和810个Hep3B肝癌细胞. 掺入细胞计数采用COULTER® LH750型血液分析仪进行. 对于特异性分析, 另选2个健康志愿者, 每人各抽取5份外周静脉血, 每份5 mL. 来自其中1个健康志愿者的5份血样中每份掺入100个MCF-7乳腺癌细胞, 来自其中另1个健康志愿者的5份血样中每份掺入100个A498肾癌细胞. 然后将以上35个血样本用前述CTCs分离和鉴定方法进行处理和分析. 以上所有操作由同一位操作者进行.

2 结果

将不同数目的人肝癌细胞Hep3B掺入抽取的5 mL健康志愿者的外周血样本中, 然后用所建立的循环肝癌细胞分离/鉴定系统进行肝癌细胞分离鉴定. 分离后采用Hep Par 1抗体进行免疫荧光染色鉴定的肝癌细胞(图1). 对于免疫荧光染色, 肝癌细胞特征为: Hep Par 1阳性、DAPI阳性、CD45阴性, 细胞呈圆至椭圆形, 细胞核完整, 具有细胞体积大、核浆比高等恶性肿瘤细胞特征. 排除细胞碎片和非特异染色的细胞, 符合上述特征的细胞记为CTCs.

用含EDTA的5 mL抗凝管替代肝素抗凝管收集血液, 细胞悬液中未再出现凝胶现象. 将不同数目的人肝癌细胞Hep3B掺入抽取的5 mL健康志愿者的外周血样本中, 掺入数分别为10、30、90、270和810个, 每个掺入水平为5个血样本. 在各个掺入水平, 改良法的平均回收率分别为88%、75%、80%、73%和70%, 而原检测法在相应掺入水平的平均回收率分别为72%、69%、66%、64%、61%[6], 每个掺入水平的回收率差异均有统计学意义(P<0.05)(表1). 在掺入100个人乳腺癌细胞MCF-7的所有5个血样本和掺入100个人肾癌细胞系A498的所有5个血样本中, 没有1个样本检出Hep Par 1阳性肿瘤细胞.

3 讨论

CTCs检测已在乳腺癌、结肠癌、前列腺癌等大量类型的肿瘤中得到广泛应用[14-16]. MACS是目

■应用要点

本文建立的基于去唾液酸糖蛋白受体(ASGPR)的循环肝癌细胞分离/检测系统有望在HCC的早期诊断、预测转移复发、疗效监测以及筛选HCC肝移植受者等方面得到临床应用. 同时, 利用该系统分离到的循环肝癌细胞, 可进行直接分析和继续培养. 因此, 该系统有可能成为一个重要的技术平台, 推动HCC临床应用研究和基础研究的进步.

表 1 改良法与原检测法在各个细胞数掺入水平的回收率比较

掺入细胞数	原检测法			改良法			*P*值
	平均回收数	SD	平均回收率(%)	平均回收数	SD	平均回收率(%)	
10	7	2	72	9	1	88	0.035
30	21	4	69	23	3	75	0.047
90	59	9	66	72	12	80	0.023
270	172	13	64	198	13	73	0.045
810	496	28	61	568	43	70	0.002

前临床检测CTCs的标准方法. 然而, 由于缺乏肝癌细胞特异性表面单克隆抗体, 少见用该方法分离循环肝癌细胞的报道. 本研究创造性地建立了基于肝实质细胞表面的特异性受体ASGPR及其配体相互作用的循环肝癌细胞磁性分选方法, 从而绕开了因缺少肝癌细胞表面特异性抗体而造成的瓶颈. 分离到的肝癌细胞采用肝细胞特异性抗体Hep Par 1的免疫荧光染色鉴定方法进行鉴定.

ASGPR特异表达于肝实质细胞和肝癌细胞[17-22], 且Hep Par 1抗体能识别包括正常细胞和肝癌细胞在内的肝源性细胞[23-26]. 通常认为正常肝细胞一般不会进入血循环, 除非演变成肿瘤细胞后才有这种可能, 因此可认为用我们的系统检测到的细胞即为肝癌细胞. 有报道显示感染了淋球菌的尿道上皮细胞和近端肾小管上皮细胞也表达ASGPR[27,28], 然而这些细胞一般不会出现在外周血中. 事实上, 即使有少量ASGPR阳性的非肝源性细胞存在于富集的细胞组分中, 也不会产生阳性结果, 因为我们采用肝细胞特异性抗体Hep Par 1检测肝癌细胞. 因为有30%左右HCC病例AFP阴性[29,30], 因此AFP抗体用于检测循环肝癌细胞可能会产生假阳性. 此外, 相比较于广谱角蛋白抗体CK3-6H5, 考虑到潜在的假阳性结果可能, 我们也更倾向于使用肝细胞特异性抗体Hep Par 1检测循环肝癌细胞.

Almeida等[13]报道, 当肝素浓度为到5-225 U/mL时, 将会和淋巴细胞形成凝胶状胶体, 胶体形成范围与肝素及淋巴细胞的浓度有关. 单核细胞分离液Ficoll-Paque Plus使用手册中亦指出: 细胞分离过程中, 样品中添加的肝素可能会导致细胞悬液形成凝胶. 我们在实际操作过程中也发现类似现象, 肝素与细胞悬液形成的凝胶通过磁性分离柱时, 流速十分缓慢, 影响了回收效率. 我们在改良法中使用EDTA抗凝管替代肝素抗凝管收集外周血. EDTA与钙离子结合成螯合物, 从而阻止血液凝固. 但配体和ASGPR的结合是Ca^{2+}依赖的, 反应体系中必须有Ca^{2+}存在, 故我们在去唾液酸胎球蛋白作为配体与肝癌细胞孵育过程中加入Ca^{2+}, 以补充抗凝过程中EDTA结合的Ca^{2+}. 细胞掺入试验结果显示, 改良法在各个掺入水平, 回收率均≥70%. 回收效率较原检测法明显提高(所有$P<0.05$). 在掺入100个人乳腺癌细胞MCF-7的所有5个血样本和掺入100个人肾癌细胞系A498的所有5个血样本中, 没有1个样本检出Hep Par 1阳性肿瘤细胞. 以上结果显示本研究所建立的循环肝癌细胞分离/检测系统具有高度的敏感性和特异性.

总之, 我们建立的基于ASGPR的循环肝癌细胞分离/检测系统有望在HCC的早期诊断、预测转移复发、疗效监测以及筛选HCC肝移植受者等方面得到临床应用. 同时, 利用该系统分离到的循环肝癌细胞, 可进行直接分析和继续培养. 因此, 该系统有可能成为一个重要的技术平台, 推动HCC临床应用研究和基础研究的进步.

4 参考文献

1 Funaki NO, Tanaka J, Seto SI, Kasamatsu T, Kaido T, Imamura M. Hematogenous spreading of hepatocellular carcinoma cells: possible participation in recurrence in the liver. *Hepatology* 1997; 25: 564-568 [PMID: 9049199 DOI: 10.1002/hep.510250312]

2 Paterlini-Brechot P, Benali NL. Circulating tumor cells (CTC) detection: clinical impact and future directions. *Cancer Lett* 2007; 253: 180-204 [PMID: 17314005 DOI: 10.1016/j.canlet.2006.12.014]

3 Miller MC, Doyle GV, Terstappen LW. Significance of Circulating Tumor Cells Detected by the CellSearch System in Patients with Metastatic Breast Colorectal and Prostate Cancer. *J Oncol* 2010; 2010: 617421 [PMID: 20016752 DOI: 10.1155/2010/617421]

4 de Boer CJ, van Krieken JH, Janssen-van Rhijn CM, Litvinov SV. Expression of Ep-CAM in normal, regenerating, metaplastic, and neoplastic liver. *J Pathol* 1999; 188: 201-206 [PMID: 10398165 DOI: 10.1002/(SICI)1096-9896(199906)188:]

5 Ruck P, Wichert G, Handgretinger R, Kaiserling E. Ep-CAM in malignant liver tumours. *J Pathol* 2000; 191: 102-103 [PMID: 10767726 DOI: 10.1002/(SICI)1

096-9896(200005)191:]
6 Yamashita T, Forgues M, Wang W, Kim JW, Ye Q, Jia H, Budhu A, Zanetti KA, Chen Y, Qin LX, Tang ZY, Wang XW. EpCAM and alpha-fetoprotein expression defines novel prognostic subtypes of hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 2008; 68: 1451-1461 [PMID: 18316609 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-6013]
7 Spiess M. The asialoglycoprotein receptor: a model for endocytic transport receptors. *Biochemistry* 1990; 29: 10009-10018 [PMID: 2125488 DOI: 10.1021/bi00495a001]
8 Sugahara K, Togashi H, Takahashi K, Onodera Y, Sanjo M, Misawa K, Suzuki A, Adachi T, Ito J, Okumoto K, Hattori E, Takeda T, Watanabe H, Saito K, Saito T, Sugai Y, Kawata S. Separate analysis of asialoglycoprotein receptors in the right and left hepatic lobes using Tc-GSA SPECT. *Hepatology* 2003; 38: 1401-1409 [PMID: 14647051 DOI: 10.1016/j.hep.2003.09.031]
9 Kaneta T, Hakamatsuka T, Ito H, Maruoka S, Fukuda H, Takahashi S, Yamada S. Usefulness of asialoglycoprotein receptor imaging for the evaluation of liver metastasis of neuroblastoma. *Ann Nucl Med* 2004; 18: 355-358 [PMID: 15359931 DOI: 10.1007/BF02984476]
10 Rensen PC, Sliedregt LA, van Santbrink PJ, Ferns M, Schifferstein HN, van Leeuwen SH, Souverijn JH, van Berkel TJ, Biessen EA. Stimulation of liver-directed cholesterol flux in mice by novel N-acetylgalactosamine-terminated glycolipids with high affinity for the asialoglycoprotein receptor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26: 169-175 [PMID: 16254203 DOI: 10.1161/01.ATV.0000193620.98587.40]
11 Wang S, Cheng L, Yu F, Pan W, Zhang J. Delivery of different length poly(L-lysine)-conjugated ODN to HepG2 cells using N-stearyllactobionamide-modified liposomes and their enhanced cellular biological effects. *Int J Pharm* 2006; 311: 82-88 [PMID: 16427225 DOI: 10.1016/j.ijpharm.2005.12.014]
12 Xu W, Cao L, Chen L, Li J, Zhang XF, Qian HH, Kang XY, Zhang Y, Liao J, Shi LH, Yang YF, Wu MC, Yin ZF. Isolation of circulating tumor cells in patients with hepatocellular carcinoma using a novel cell separation strategy. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 3783-3793 [PMID: 21527564 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-10-0498]
13 Almeida AP, Beaven MA. Gel formation with leucocytes and heparin. *Life Sci* 1980; 26: 549-555 [PMID: 6767888 DOI: 10.1016/0024-3205(80)90318-5]
14 Shaffer DR, Leversha MA, Danila DC, Lin O, Gonzalez-Espinoza R, Gu B, Anand A, Smith K, Maslak P, Doyle GV, Terstappen LW, Lilja H, Heller G, Fleisher M, Scher HI. Circulating tumor cell analysis in patients with progressive castration-resistant prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 2023-2029 [PMID: 17404082 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-06-2701]
15 Cristofanilli M, Budd GT, Ellis MJ, Stopeck A, Matera J, Miller MC, Reuben JM, Doyle GV, Allard WJ, Terstappen LW, Hayes DF. Circulating tumor cells, disease progression, and survival in metastatic breast cancer. *N Engl J Med* 2004; 351: 781-791 [PMID: 15317891 DOI: 10.1056/NEJMoa040766]
16 Sastre J, Maestro ML, Puente J, Veganzones S, Alfonso R, Rafael S, García-Saenz JA, Vidaurreta M, Martín M, Arroyo M, Sanz-Casla MT, Díaz-Rubio E. Circulating tumor cells in colorectal cancer: correlation with clinical and pathological variables. *Ann Oncol* 2008; 19: 935-938 [PMID: 18212090 DOI: 10.1093/annonc/mdm583]
17 Ashwell G, Harford J. Carbohydrate-specific receptors of the liver. *Annu Rev Biochem* 1982; 51: 531-554 [PMID: 6287920 DOI: 10.1146/annurev.bi.51.070182.002531]
18 Trerè D, Fiume L, De Giorgi LB, Di Stefano G, Migaldi M, Derenzini M. The asialoglycoprotein receptor in human hepatocellular carcinomas: its expression on proliferating cells. *Br J Cancer* 1999; 81: 404-408 [PMID: 10507763 DOI: 10.1038/sj.bjc.6690708]
19 Park JH, Cho EW, Shin SY, Lee YJ, Kim KL. Detection of the asialoglycoprotein receptor on cell lines of extrahepatic origin. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 244: 304-311 [PMID: 9514919 DOI: 10.1006/bbrc.1998.8256]
20 Park JH, Kim KL, Cho EW. Detection of surface asialoglycoprotein receptor expression in hepatic and extra-hepatic cells using a novel monoclonal antibody. *Biotechnol Lett* 2006; 28: 1061-1069 [PMID: 16799763 DOI: 10.1007/s10529-006-9064-0]
21 Díaz C, Vargas E, Gätjens-Boniche O. Cytotoxic effect induced by retinoic acid loaded into galactosylsphingosine containing liposomes on human hepatoma cell lines. *Int J Pharm* 2006; 325: 108-115 [PMID: 16870366]
22 Jain V, Nath B, Gupta GK, Shah PP, Siddiqui MA, Pant AB, Mishra PR. Galactose-grafted chylomicron-mimicking emulsion: evaluation of specificity against HepG-2 and MCF-7 cell lines. *J Pharm Pharmacol* 2009; 61: 303-310 [PMID: 19222902 DOI: 10.1211/jpp.61.03.0004]
23 Wennerberg AE, Nalesnik MA, Coleman WB. Hepatocyte paraffin 1: a monoclonal antibody that reacts with hepatocytes and can be used for differential diagnosis of hepatic tumors. *Am J Pathol* 1993; 143: 1050-1054 [PMID: 7692729]
24 Minervini MI, Demetris AJ, Lee RG, Carr BI, Madariaga J, Nalesnik MA. Utilization of hepatocyte-specific antibody in the immunocytochemical evaluation of liver tumors. *Mod Pathol* 1997; 10: 686-692 [PMID: 9237179]
25 Butler SL, Dong H, Cardona D, Jia M, Zheng R, Zhu H, Crawford JM, Liu C. The antigen for Hep Par 1 antibody is the urea cycle enzyme carbamoyl phosphate synthetase 1. *Lab Invest* 2008; 88: 78-88 [PMID: 18026163 DOI: 10.1038/labinvest.3700699]
26 Lugli A, Tornillo L, Mirlacher M, Bundi M, Sauter G, Terracciano LM. Hepatocyte paraffin 1 expression in human normal and neoplastic tissues: tissue microarray analysis on 3,940 tissue samples. *Am J Clin Pathol* 2004; 122: 721-727 [PMID: 15491968 DOI: 10.1309/KC09YTF2M4DLUYQ6]
27 Seow YY, Tan MG, Woo KT. Expression of a functional asialoglycoprotein receptor in human renal proximal tubular epithelial cells. *Nephron* 2002; 91: 431-438 [PMID: 12119473 DOI: 10.1159/000064283]
28 Harvey HA, Ketterer MR, Preston A, Lubaroff D, Williams R, Apicella MA. Ultrastructural analysis of primary human urethral epithelial cell cultures infected with Neisseria gonorrhoeae. *Infect Immun* 1997; 65: 2420-2427 [PMID: 9169783]
29 Murugavel KG, Mathews S, Jayanthi V, Shankar EM, Hari R, Surendran R, Vengatesan A, Raghuram K, Rajasambandam P, Murali A, Srinivas U, Palaniswamy KR, Pugazhendhi T, Thyagarajan SP. Alpha-fetoprotein as a tumor marker in hepa-

■同行评价
本文学术价值较高, 具有一定的指导意义.

tocellular carcinoma: investigations in south Indian subjects with hepatotropic virus and aflatoxin etiologies. *Int J Infect Dis* 2008; 12: e71-e76 [PMID: 18658001 DOI: 10.1016/j.ijid.2008.04.010]

30 Trevisani F, D'Intino PE, Morselli-Labate AM, Mazzella G, Accogli E, Caraceni P, Domenicali M, De Notariis S, Roda E, Bernardi M. Serum alpha-fetoprotein for diagnosis of hepatocellular carcinoma in patients with chronic liver disease: influence of HBsAg and anti-HCV status. *J Hepatol* 2001; 34: 570-575 [PMID: 11394657 DOI: 10.1016/S0168-8278(00)00053-2]

编辑 田滢 电编 闫晋利

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》修回稿须知

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

1 修回稿信件

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

2 稿件修改

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

3 版权

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2013年4月8日; 21(10): 865-872
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

胃癌和大肠癌TS基因多态性的研究进展

李厚强, 余英豪

李厚强, 余英豪, 中国人民解放军南京军区福州总医院病理科 福建省福州市 350025
李厚强, 主要从事肿瘤病理诊断及消化系肿瘤的基础应用研究.
福建省大学生创新创业训练计划基金资助项目, No. C12023
作者贡献分布: 本文综述由李厚强完成; 余英豪负责审校.
通讯作者: 余英豪, 教授, 主任医师, 350025, 福建省福州市西二环路156号, 中国人民解放军南京军区福州总医院病理科.
yuyinghao0808@126.com
电话: 0591-81737703
收稿日期: 2013-01-11 修回日期: 2013-03-04
接受日期: 2013-03-14 在线出版日期: 2013-04-08

TS gene polymorphisms in gastric cancer and colorectal cancer

Hou-Qiang Li, Ying-Hao Yu

Hou-Qiang Li, Ying-Hao Yu, Department of Pathology, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command of Chinese PLA, Fuzhou 350025, Fujian Province, China
Supported by: the College Student Innovative Research Fund of Fujian Province, No. C12023
Correspondence to: Ying-Hao Yu, Professor, Chief Physician, Department of Pathology, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command of Chinese PLA, 156 Xierhuan Road, Fuzhou 350025, Fujian Province, China. yuyinghao0808@126.com
Received: 2012-01-11 Revised: 2013-03-04
Accepted: 2013-03-14 Published online: 2013-04-08

Abstract

Gastric cancer and colorectal cancer are the most common gastrointestinal tumors worldwide. The development, metastasis and recurrence of gastric cancer and colorectal cancer are complex and are affected and regulated by many factors. These factors have important significance in guiding treatment and predicting prognosis. Recent studies have shown that thymidylic acid synthase (TS) is closely related with the occurrence, chemotherapy and prognosis of gastric cancer and colorectal cancer; however, there is still some controversy over this view. This review discusses the relationship between TS gene polymorphisms and gastric cancer and colorectal cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Thymidylate synthase; Gene polymorphism; Drug resistance; Gastric cancer; Colorectal cancer

Li HQ, Yu YH. TS gene polymorphisms in gastric cancer and colorectal cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(10): 865-872 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/865.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i10.865

摘要

胃癌和大肠癌是世界范围内常见的胃肠道肿瘤. 鉴于胃癌和大肠癌的发生发展、转移及复发为多因素、多步骤的错综复杂的过程, 受多种相关因子的调控, 因此对这一过程中相关调控因素及其对预后的判断及指导治疗的研究等引起了学术界的广泛关注. 近年研究表明胸苷酸合成酶(thymidylate synthase, TS)与上述过程关系密切, 主要涉及胃癌和大肠癌的发生发展、化疗效果及预后等诸多方面, 其中一些在学术界已达成共识, 但仍有许多问题存在较大的争议. 本文就TS基因多态性及其与胃癌和大肠癌的关系作一综述.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 胸苷酸合成酶; 基因多态性; 耐药; 胃癌; 大肠癌

核心提示: 近年来, 关于逆转肿瘤细胞多药耐药作用的研究引起广泛的关注. 其中对逆转胸苷酸合成酶(thymidylate synthase)基因介导的多药耐药的研究取得了一定的成果. 一些新的逆转思路如哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin)抑制剂, 钙蛋白酶抑制剂, 人细胞核dUTP焦磷酸酶抑制剂等也陆续展现出乐观的应用前景.

李厚强, 余英豪. 胃癌和大肠癌TS基因多态性的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(10): 865-872 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/865.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i10.865

0 引言

胸苷酸合成酶(thymidylate synthase, TS)是一种由两个相同亚单位组成的二聚体蛋白质, 分子

■背景资料
胸苷酸合成酶(TS)在核苷酸代谢过程与叶酸的循环代谢中发挥着重要作用, 近年来研究表明其在肿瘤的发生发展、复发转移、化疗效果及预后等诸多方面起着重要作用.

■同行评议者
王承党, 教授, 福建医科大学附属第一医院消化内科

■研发前沿
目前国内外对TS基因SNP多态性和胃肠道肿瘤基因组不稳定性的研究报道不多, 逆转TS基因介导的多药耐药作用是目前研究的热点之一, 进行深入的耐药逆转研究将为胃肠道肿瘤患者的放化疗带来极大的帮助.

量为72 kDa. 在核苷酸代谢过程中发挥着重要作用, 负责催化尿嘧啶脱氧核苷酸dUMP甲基化成胸腺嘧啶核苷酸dTMP, 而这一步骤是DNA合成过程中的关键步骤. 因而TS的过表达将引起DNA的过度复制, 最终导致肿瘤的发生, 同时TS还参与叶酸的循环代谢. 因此, TS是抗击肿瘤的重要靶点, 也是各种化疗药物作用的重要靶点. TS基因位于人类染色体18p11.32上, 其损伤会导致染色体的损伤和遗传不稳定性. TS基因具有多态性, 可造成TS酶活性及功能的多态性, 进而对细胞代谢产生不同的影响, 导致肿瘤的发生发展, 且表现出明显的个体差异性.

1 TS基因多态性

1.1 TS基因多态性的种类 TS基因共有3种主要的多态性改变, 分别是: (1)TS基因5'非编码区(untranslated region, UTR)28 bp多态性重复序列; (2)TS基因3'-UTR多态性; (3)TS基因5'-UTR单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP). 其多态性都会影响TS的表达和叶酸代谢. 目前研究较多的为5'-UTR多态性重复序列和3'-UTR多态性, 而对5'-UTR SNP则研究较少, 尤其是2G、2C的研究尚处于起步阶段.

国外学者研究发现[1], TS基因启动子转录区起始点上游存在28 bp(CCGCGCCCACTTGGCCTGCCTCCGTCCCG)重复序列, 该序列和多种转录调节蛋白结合后能刺激和增强启动子的活性, 进而影响基因的表达效率, 因而被称为TS启动子增强区. 通过RT-PCR技术发现该多态性主要包括2次和3次重复序列(2R和3R), 尽管也有4R、5R、9R等更多重复等位基因的报道, 但出现的概率极小, 目前公认的3种常见基因型包括2R/2R、3R/3R、2R/3R.

TS基因3'-UTR多态性是指TS基因3'-UTR 1 494 bp处存在的6 bp核苷酸片段的插入/缺失多态性, 可分为+6/+6 bp、+6/-6 bp和-6/-6 bp 3种基因型. 5'-UTR SNP多态性最早由Mandola等[2]提出, 他们发现在TS基因的3R等位基因第2次重复的第12个核苷酸处存在G>C单核苷酸多态性, 这2个等位基因被分别称为3G和3C. 之后Lincz等[3]又发现了2R等位基因第1次重复序列中的G/C突变, 并命名为2G和2C. 至此, 5'-UTR多态性重复序列又被分为2G、2C、3G、3C. SNP是人类基因组中最广泛的多态性现象, 在目前人类基因组研究中备受关注. 新的TS基因SNP多态性不断被学者发现, 其中包括Ghosh等[4]最近发现的TS基因多态性重复序列侧翼遗传区存在的SNPs.

研究表明, TS基因多态性存在种族地域上的差异. Tang等[5]对包含11 315名肿瘤患者和15 877名健康人的33组研究样本进行荟萃分析时发现2R基因在亚洲人中基因频率为0.18(95%CI: 0.16-0.52), 在白种人中其基因频率0.46(95%CI: 0.41-0.52). 其他研究显示[6], 2R在中国人中的基因频率为0.25, 白种人中为0.40. 这种分布的显著差异也表现在3'-UTR的基因型中, -6 bp在亚洲人群中基因频率为0.31(95%CI: 0.30-0.32), 在白人中为0.56(95%CI: 0.38-0.73). Graziano等[7]对意大利139例健康人研究发现, 2R、3G、3C基因型出现频率分别为0.49、0.215与0.275, 在新加坡的中国人中分别为0.19、0.51及0.30.

1.2 TS基因多态性对TS表达的影响 目前关于TS的研究表明原发肿瘤组织中TS的表达水平明显高于正常组织. 免疫组织化学法[8-11]检测胃癌组织中的阳性表达率高达42.9%-46.3%. 在大肠癌组织中TS的阳性率为44%-76%, 而正常大肠组织不表达TS. 国内外学者目前多认为TS基因多态性是TS表达水平高低及其可能存在不同亚型的主要影响因素. 体外实验证明携带3R纯合子比2R纯合子具有更高的TS表达效率[12]. 这一点在多种肿瘤的多态性研究中得到了证明. Yu等[13]对68例中国结肠癌患者的研究显示, 3R/3R基因型较2R/3R及2R/2R基因型具有更高的TS表达. TS基因重复多态性对TS表达所产生的影响归咎于在3R基因型中有两个USF家族E-box, 2R基因型中则只有一个USF家族E-box, 3R中的这个额外的USF家族E-box使3R比2R具有更强的转录效率. 另外还发现3R的一个USF家族E-box存在G-C突变, G-C突变改变了USF家族E-box的蛋白位点, 从而改变了3R原有的转录效率, 使得3C基因型表达的蛋白量与2R相近[2]. 提示影响TS表达的最根本因素可能是没有发生G-C突变的E-box的数量. 现在多认为2R/2R、2R/3C、3C/3C为TS低表达的基因型, 而2R/3G、3C/3G、3G/3G是TS高表达的基因型. Mauritz等[12]的研究显示, 包含1个或2个3G的基因型表达蛋白量为其他基因型的2.4倍, 催化活性较其他基因型也明显增强. 3'-UTR多态性可能通过影响TS mNRA的稳定性调节TS的水平, 体外实验证明等位基因-6 bp能降低TS mRNA的稳定性. 而在体内实验中有学者研究显示+6/+6

bp基因型携带者体内细胞表达TS的水平比-6/-6 bp高[14-16]. 少数学者认为基因多态性和蛋白表达间没有相关性[17], 另有学者认为TS基因多态性对蛋白表达的影响具有组织选择性. Mauritz等[12]对结直肠癌患者的研究显示, 在结直肠癌肿瘤转移病灶组织及原发病灶中未发现TS活性及含量与5'-UTR重复多态及SNP相关, 而二者对TS活性及含量的影响仅仅表现在正常组织中, 这些争议的产生可能是由于检测方法(包括免疫印迹, RT-PCR和免疫组织化学)的差异造成.

关于TS及其表达和肿瘤的关系, 多数认为二者联系紧密. 余之刚等[18]检测了164例胃癌标本, 显示TS表达水平高低与肿瘤分化程度、浸润深度、淋巴结转移与否及临床病理分期密切相关(P<0.001). TS高表达预示着肿瘤具有较强的侵袭性. Fariña-Sarasqueta[19]在对251例III期结肠癌的患者的研究中发现, 肿瘤分期与TS基因SNP多态性和5'-UTR重复多态性存在关联(P<0.05), TS的表达和结直肠癌的临床分期成正相关, TS基因多态性与肿瘤不同病理参数间亦有相关性. 但华东等[20]在对51例胃癌组织中TS mRNA表达水平进行检测时发现, TS mRNA表达与年龄、性别、淋巴结转移、组织学分级及临床分期均无相关性(P = 0.05). 相似的结论也出现在Brücher等[21]的研究中, 他们发现TS的表达和ESCC患者的临床和病理各项参数间没有必然的相关性.

2 TS基因多态性与恶性肿瘤

2.1 *与肿瘤易感性的关系* 关于TS基因多态性和肿瘤易感性之间的关系, 国内外学者对胃癌、乳腺癌和结直肠癌等许多肿瘤做了大量研究, 但结论一直存在争议. 目前多态性的研究多集中在5'-UTR重复多态性和3'-UTR多态性上. 多数研究提示5'-UTR重复多态性和3'-UTR多态性和肿瘤易感性有相关性. Tang等[5]将筛选的37个不同地域人群患有不同肿瘤的患者的样本进行荟萃分析, 将样本中9 642名癌症患者和13 296名健康人用于3'-UTR多态性研究, 另外将样本中11 315名患者, 15 887名健康人用于5'-UTR重复多态性和易感性的研究. 荟萃分析结果显示肿瘤易感性和5'-UTR重复多态性(3R/3R *vs* 2R/2R, OR = 1.06, 95%CI: 0.93-1.20)以及3'-UTR多态性(-6/-6 bp *vs* +6/+6 bp, OR = 0.93, 95%CI: 0.81-1.08)均没有显示出任何关联. 同时, 在癌症种类和种族地域差异分层分析中, 也没有发现多态性和肿瘤易感性有相关性. Zhou等[22]在63个样本中的19 707名癌症患者和27 398名健康人的荟萃分析研究中发现, 联合分析所有病例并不能证明5'-UTR重复多态性和3'-UTR多态性和肿瘤易感性间有关联. 但是分层分析数据表明亚洲人种2R/2R的个体具有更高的胃癌患病风险(2R/2R *vs* 3R/3R; OR = 1.24, 95%CI: 1.05-1.45; 隐性模型; OR = 1.23, 95%CI: 1.05-1.44). 进一步分析显示2R/2R能显著增加亚洲人种胃食管部的肿瘤发生风险, 但他却可防止白种人患上大肠癌. Zhuang等[23]也得出了相似的结论,荟萃分析研究中对所有病例分析时没有显示出两种主要多态性与肿瘤患病风险的关系. 分层分析表明2R/2R在亚洲人种中更易导致胃癌发生, 在白人群体中, 携带+6/+6 bp基因型的个体具有更高的胃癌患病风险. 以上提示TS基因多态性对肿瘤易感性的影响有地域种族的差异. 在其他的一些研究中不少学者也提到了TS基因多态性和易感性的关系. Yoshimitsu等[24]对445名大肠腺癌患者及1 052名健康人的对照实验显示2R/2R基因型较其他基因型具有更高的易感性. Canalle等[25]对206名巴西ALL的儿童患者和364名健康人的研究中发现3R/3R基因型个体患ALL的概率较小(OR = 0.6, 95%CI: 0.37-0.99). Akisik等[26]与Zhou等[22]的研究表明3'-UTR多态性和乳腺癌的易感性息息相关, -6/-6基因可导致亚洲人对乳腺癌易感.

关于5'-UTR SNP多态性与肿瘤易感性的相关性, 目前研究较少, 有研究显示携带3C基因的个体比携带3G的个体对肿瘤更不易感觉. Rouissi等[27]对突尼斯的膀胱癌患者病例对照研究显示, 3C/3C基因型是膀胱癌的保护因素(P = 0.0001; OR = 0.12; 95%CI: 0.03-0.40). Graziano等[7]对134名胃癌患者及139名健康人的研究发现携带3G的基因型(2R/3G, 3C/3G, 3G/3G)胃癌患病风险更高(OR = 2.06, 95%CI: 1.26-3.35). 此外, 联合分析显示3G_-6/+6 bp基因型(OR = 2.59, 95%CI: 1.36-4.49), 3G_-6/-6 bp基因型(OR = 2.81, 95%CI: 1.22-6.64)具有较高的肿瘤发病危险. 这表明含有3G_-6 bp的基因型有明显的肿瘤易感性(P = 0.01).

2.2 *与肿瘤转移复发的关系* 肿瘤转移复发是恶性肿瘤患者死亡的重要原因, 每年大约有90%的恶性肿瘤患者是最终死于肿瘤转移和复发. 如何早期预测肿瘤转移和复发已经成为当前治疗恶

■创新盘点

本文内容新颖, 涉及TS与5-氟尿嘧啶(5-FU)耐药逆转的内容对基础研究和临床应用均有较重要的指导价值.

■应用要点
本文对TS基因多态性及其表达与胃肠道肿瘤的关系进行研究，有助揭开胃肠道肿瘤细胞耐药的机制，为胃肠道肿瘤防治带来重要的进步.

性肿瘤的热点研究. 当前关于TS与肿瘤复发和转移的研究还不是很多, 结论也有争议. 这些争议可能是由于TS基因多态性影响TS表达所致.

在相关的研究中, 大多数学者支持TS表达水平和肿瘤转移复发呈负相关. Kobayashi等[28]在原发性结直肠癌与结直肠癌肝转移中TS mRNA表达的研究中发现原发性的结直肠癌中TS mRNA的表达水平和肝转移中mRNA具有相关性(P = 0.0024). Tanaka等[29]研究显示直肠癌患者接受5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)化疗方案治疗后复发者体内TS表达水平更高(P = 0.01), 淋巴结转移率高(P<0.01). 此外, Shimokawa等[30]对手术切除的183例肺腺癌肿瘤标本的研究发现, 在肺腺癌患者和术后无复发的肺腺癌患者中TS的表达率分别为39.3%和18.1%, 表明TS的高表达是肿瘤复发的一个独立因素. 强烈提示TS可作为肿瘤复发的检测指标. 与此相反, Brücher等[21]在研究中发现TS等相关基因的表达和ESCC患者化疗后的生存及复发转移没有必然性.

3 TS基因多态性对含5-FU化疗方案的影响

3.1 对含5-FU化疗方案疗效的影响 5-FU是胃肠道肿瘤化疗中最基本的药物, 其代谢产物氟尿嘧啶脱氧核苷酸FdUMP能和TS甲基辅基形成三聚体TS-FdUMP-C2H4, 阻断dTMP合成, 最终阻断DNA合成[31]. 许多因素都能影响5-FU化疗疗效, 而多态性的影响可能是最重要的. TS基因多态性与5-FU疗效的相关性一直都是国内外的研究热点, 国内外在许多问题上达成了一致, 但仍有不少观点存在较大分歧.

在5'-UTR重复多态性的研究中, Kaneko等[32]研究显示在接受了5-FU化疗的食管癌患者中基因型为2R/2R、2R/3R的个体和3R/3R个体相比3年生存率更好(2R/2R、2R/3R *vs* 3R/3R为38%: 9%, P = 0.0110). 同样, Suh等[33]的研究显示, 121例Ⅱ、Ⅲ期结肠癌患者手术后给予5-FU化疗, 其中2R/2R、2R/3R基因型较3R/3R基因型具有较好的5年生存率(二者分别为80%及58%). Jennings等[34]的荟萃研究结果显示在2 402名接受5-FU治疗的肿瘤患者中2R/2R基因型的个体受益更明显. 以上数据提示对5'-UTR重复序列基因分型有助于指导个体5-FU化疗.

SNP多态性和5-FU疗效也可能有一定相关性. 多数学者认为含3G基因型的患者在接受治疗后临床有效率较差, 生存时间更短. Kuramochi等[35]对食管癌的研究发现, 含3G等位基因的患者术后行5-FU化疗的预后及总生存率较其他患者更差(P = 0.02). Huang等[36]的研究表明3'-UTR +6/+6 bp基因型的患者总生存率比-6/-6 bp基因型的患者差(P = 0.17), -6/+6的治疗有效率也高于+6/+6 bp基因型(P = 0.022), 表明3'-UTR多态性可能和5-FU化疗疗效相关. 目前多数学者认为, 采用5-FU化疗后TS高表达个体较低表达个体化疗有效率、预后等反应要差许多, 与上述关于基因型对5-FU化疗疗效的影响的观点相符, 因为多数研究显示基因型3R/3R较2R/2R表现为TS高表达, 含G基因型较不含G基因型表现为TS高表达.

但是持相反看法的学者也不占少数, Fariña-Sarasqueta等[19]对251例接受术前5-FU辅助化疗的结肠癌Ⅲ期患者进行研究, 认为TS基因多态性并不能作为评价直肠癌患者5-FU化疗的疗效检测指标. Sobajima等[37]在研究中发现食管鳞状细胞癌患者接受顺铂和5-FU联合化疗后的疗效和TS基因多态性没有相关性. Park等[38]在研究中也未发现多态性与5-FU化疗的临床有效率及无病生存率间存在任何关联. 因此有必要在今后采用新的实验设计对TS基因多态性及5-FU化疗方案疗效间相关性进行进一步研究, 以指导临床化疗方案制订, 利用多态性基因型帮助正确选择用药方案可能还需要更多体外实验的强有力支持[4].

3.2 与5-FU不良反应的关系 5-FU的使用一般依靠静脉滴注, 根据患者体表面积选择决定用药量, 这种给药方法最大的缺陷在于常常造成患者血浆中5-FU药量浓度浮动>100多倍. 这种患者间和患者本身的差异性可能是导致5-FU不良反应和化疗失败的主要原因, 而这种差异可能是与TS表达差异有关. 因此临床在用药前考虑到患者的耐受差异, 适当控制药物剂量是非常重要的. 关于TS基因多态性对5-FU化疗不良反应影响的研究较少. 相关研究[39-42]表明TS基因多态性基因型能够预测5-FU相关的不良反应. Ichikawa等[39]发现2R/2R比3R/3R基因型个体经化疗产生毒副作用更严重(OR = 19.2). 2R/2R、3R/3R和2R/3R化疗后中性粒细胞减少的概率分别为0.667、0.039及0.272(P = 0.0005). 发生腹泻的概率分别为0.667、0.098和0.364. Afzal等[40]对接受相同5-FU化疗方案的两组直肠癌患者进行研究, 显示TS基因3'-UTR多态性和5-FU不良反应相关. -6/-6 bp和-6/+6 bp的个体发生胃肠

道不良反应的风险较高. Peters等[41]的研究提示TS基因SNP多态性可能影响5-FU药物不良反应(P<0.01).

另一种观点认为二者间的相关性不足, Kristensen等[43]将实验组分成TS高表达(2R/3G、3G/3C、3G/3G)和低表达(2R/2R、2R/3C、3C/3C)两组, 结果没有发现SNP和3'-URT多态性会影响5-FU不良反应. 但是实验却发现2R/2R与不良反应相关. 在另一个研究中, Martinez-Balibrea[44]对149名接受了伊立替康联合5-FU联合治疗的转移性结直肠癌患者进行毒性研究时没有发现TS基因多态性和药物不良反应的相关性. 这些毒性研究遭到了美国蓝十字会(Blue Cross Blue Shield, BCBS)的强烈反对, 称这些研究是毫无意义的研究, 并指出仅仅凭借多态性无法准确预测由FU化疗方案带来的不良反应.

3.3 与5-FU耐药逆转 由于肿瘤耐药越来越严重, 患者的放化疗有效率不理想. 近年来, 关于逆转肿瘤细胞多药耐药作用的研究引起了人们的关注. 其中, 逆转TS基因介导的多药耐药作用也是目前研究的热点之一, 在逆转TS基因介导的多药耐药中也取得了一定效果. 一些经典的逆转方法主要包括反义寡核苷酸、siRNA、酶催化下的激活治疗法、免疫治疗、新型的TS制剂如zDl694, 5-FU联用甲酰四氢叶酸等, 一些新的逆转思路如哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)抑制剂, 钙蛋白酶抑制剂, 人细胞核dUTP焦磷酸酶(dUTP pyrophosphatase, dUTPase)抑制剂等也陆续展现出他们乐观的应用前景.

mTOR是细胞信号传导通路中的一种极其重要的分子, 对细胞正常生长增殖调控起着极为重要的作用. 以mTOR为靶点可抑制肿瘤细胞增殖、诱导肿瘤细胞凋亡和逆转肿瘤细胞对细胞毒性药物的抗药性[45,46]. RAD001是雷帕霉素的一种衍生物, 他能阻止mTOR下游分子的磷酸化从而抑制mTOR. 以往RAD001临床上主要用来预防肾移植和心脏移植手术后的排斥反应, 用于肿瘤耐药逆转的研究近年来逐渐引起了人们的关注. 在胃癌耐药逆转研究中, Lee等[45]发现联合使用RAD001和5-FU能显著降低胃癌肿瘤细胞中TS mRNA和蛋白质水平, 逆转胃癌耐药细胞株的耐药性. Markova等[46]在非小细胞肺癌的研究中也表明抑制mTOR通路能够逆转肿瘤细胞耐药. siRNA的研究中, Di Cresce等[47]的研究发现肿瘤细胞内联合转染特异性TS siRNA和TK1/TK2 siRNA后能明显降低TS mRNA的转录和表达, 恢复肿瘤细胞对药物的敏感性, 逆转肿瘤细胞的耐药性. 由于TK在合成dTMP中发挥着重要的作用, 而TS是从dTMP合成DNA途径所必需的关键酶, 这提示TK可作为将来抗癌治疗的新途径. 最新研究认为肿瘤细胞对5-FU化疗敏感性和TS的浓度没有关系, 而是和TS-FdUMP复合物有关. 相关学者[48]的研究显示钙蛋白酶可以降低TS-FdUMP的浓度, 进而降低化疗药物的敏感性. 因此相关的钙蛋白酶抑制剂将在未来的临床化疗中发挥巨大作用. dUTPase抑制剂在逆转TS靶向化疗药物中的作用陆续在培美曲塞, 5-FU等耐药研究中得到了证实[49,50]. 各种TS抑制剂能使体内dUTP积聚并抑制dUMP的转化, 而dUTPase可破坏这一过程, 促进dUTP水解成dUMP, 造成药效降低[51]. Miyohara等[50]率先进行了dUTPase的体内抑制实验, 证明dUTPase抑制剂能显著加强5-FU的化疗功效, 提高治疗治疗敏感度和化疗有效率, dUTPase抑制剂将对TS靶向药物产生深远的影响.

4 结论

胸苷酸合成酶TS在肿瘤尤其是胃肠道肿瘤的发生发展过程中起着重要的作用, 可能是胃肠道肿瘤发生、预后判断、转移、复发和化疗耐药的重要指标. 进一步研究TS基因多态性及其表达与胃肠道肿瘤的关系, 将有望成为预测胃肠道肿瘤发生、化疗疗效评估、预后判断的重要指标, 将有助揭开胃肠道肿瘤细胞耐药的机制, 为胃肠道肿瘤防治带来重要的进步. 目前国内外对TS基因SNP多态性和胃肠道肿瘤的基因组不稳定性方面报道不多, 对TS相关耐药的逆转研究较少, 有待进一步研究.

■同行评价
本文选题好, 内容新, 对基础研究和临床应用都有较好的指导价值.

5 参考文献

1 Horie N, Aiba H, Oguro K, Hojo H, Takeishi K. Functional analysis and DNA polymorphism of the tandemly repeated sequences in the 5'-terminal regulatory region of the human gene for thymidylate synthase. *Cell Struct Funct* 1995; 20: 191-197 [PMID: 7586009 DOI: 10.1247/csf.20.191]

2 Mandola MV, Stoehlmacher J, Muller-Weeks S, Cesarone G, Yu MC, Lenz HJ, Ladner RD. A novel single nucleotide polymorphism within the 5' tandem repeat polymorphism of the thymidylate synthase gene abolishes USF-1 binding and alters transcriptional activity. *Cancer Res* 2003; 63: 2898-2904 [PMID: 12782596]

3 Lincz LF, Scorgie FE, Garg MB, Ackland SP. Identification of a novel single nucleotide polymorphism in the first tandem repeat sequence of the thymi-

dylate synthase 2R allele. *Int J Cancer* 2007; 120: 1930-1934 [PMID: 17278107 DOI: 10.1002/ijc.22568]
4 Ghosh S, Hossain MZ, Borges M, Goggins MG, Ingersoll RG, Eshleman JR, Klein AP, Kern SE. Analysis of polymorphisms and haplotype structure of the human thymidylate synthase genetic region: a tool for pharmacogenetic studies. *PLoS One* 2012; 7: e34426 [PMID: 22496803 DOI: 10.1371/journal.pone.0034426]
5 Tang J, Wang PP, Zhuang YY, Chen WJ, Huang FT, Zhang SN. Thymidylate synthase genetic polymorphisms and cancer risk: a meta-analysis of 37 case-control studies. *Chin Med J* (Engl) 2012; 125: 2582-2588 [PMID: 22882943]
6 Hur H, Kang J, Kim NK, Min BS, Lee KY, Shin SJ, Keum KC, Choi J, Kim H, Choi SH, Lee MY. Thymidylate synthase gene polymorphism affects the response to preoperative 5-fluorouracil chemoradiation therapy in patients with rectal cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2011; 81: 669-676 [PMID: 20932673 DOI: 10.1016/j.ijrobp.2010.06.049]
7 Graziano F, Kawakami K, Watanabe G, Ruzzo A, Humar B, Santini D, Catalano V, Ficarelli R, Merriman T, Panunzi S, Testa E, Cascinu S, Bearzi I, Tonini G, Magnani M. Association of thymidylate synthase polymorphisms with gastric cancer susceptibility. *Int J Cancer* 2004; 112: 1010-1014 [PMID: 15386366 DOI: 10.1002/ijc.20489]
8 Kuniyasu T, Nakamura T, Tabuchi Y, Kuroda Y. Immunohistochemical evaluation of thymidylate synthase in gastric carcinoma using a new polyclonal antibody: the clinical role of thymidylate synthase as a prognostic indicator and its therapeutic usefulness. *Cancer* 1998; 83: 1300-1306 [PMID: 9762929]
9 Suda Y, Kuwashima Y, Tanaka Y, Uchida K, Akazawa S. Immunohistochemical detection of thymidylate synthase in advanced gastric cancer: a prognostic indicator in patients undergoing gastrectomy followed by adjuvant chemotherapy with 5-fluoropyrimidines. *Anticancer Res* 1999; 19: 805-810 [PMID: 10216496]
10 Aschele C, Debernardis D, Casazza S, Antonelli G, Tunesi G, Baldo C, Lionetto R, Maley F, Sobrero A. Immunohistochemical quantitation of thymidylate synthase expression in colorectal cancer metastases predicts for clinical outcome to fluorouracil-based chemotherapy. *J Clin Oncol* 1999; 17: 1760-1770 [PMID: 10561213]
11 Edler D, Kressner U, Ragnhammar P, Johnston PG, Magnusson I, Glimelius B, Påhlman L, Lindmark G, Blomgren H. Immunohistochemically detected thymidylate synthase in colorectal cancer: an independent prognostic factor of survival. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 488-492 [PMID: 10690528]
12 Mauritz R, Giovannetti E, Beumer IJ, Smid K, Van Groeningen CJ, Pinedo HM, Peters GJ. Polymorphisms in the enhancer region of the thymidylate synthase gene are associated with thymidylate synthase levels in normal tissues but not in malignant tissues of patients with colorectal cancer. *Clin Colorectal Cancer* 2009; 8: 146-154 [PMID: 19632929 DOI: 10.3816/CCC.2009.n.024]
13 Yu KH, Wang WX, Ding YM, Li H, Wang ZS. Polymorphism of thymidylate synthase gene associated with its protein expression in human colon cancer. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 617-621 [PMID: 18203297 DOI: 10.3748/wjg.14.617]
14 Mandola MV, Stoehlmacher J, Zhang W, Groshen S, Yu MC, Iqbal S, Lenz HJ, Ladner RD. A 6 bp polymorphism in the thymidylate synthase gene causes message instability and is associated with decreased intratumoral TS mRNA levels. *Pharmacogenetics* 2004; 14: 319-327 [PMID: 15115918 DOI: 10.1097/00008571-200405000-00007]
15 Stoehlmacher J, Goekkurt E, Mogck U, Aust DE, Kramer M, Baretton GB, Liersch T, Ehninger G, Jakob C. Thymidylate synthase genotypes and tumour regression in stage II/III rectal cancer patients after neoadjuvant fluorouracil-based chemoradiation. *Cancer Lett* 2008; 272: 221-225 [PMID: 18722050 DOI: 10.1016/j.canlet.2008.07.008]
16 Lamas MJ, Duran G, Gomez A, Balboa E, Anido U, Bernardez B, Rana-Diez P, Lopez R, Carracedo A, Barros F. X-ray cross-complementing group 1 and thymidylate synthase polymorphisms might predict response to chemoradiotherapy in rectal cancer patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2012; 82: 138-144 [PMID: 21167658 DOI: 10.1016/j.ijrobp.2010.09.053]
17 Gosens MJ, Moerland E, Lemmens VP, Rutten HT, Tan-Go I, van den Brule AJ. Thymidylate synthase genotyping is more predictive for therapy response than immunohistochemistry in patients with colon cancer. *Int J Cancer* 2008; 123: 1941-1949 [PMID: 18661526 DOI: 10.1002/ijc.23740]
18 余之刚, 张强, 贾红英, 王建新. 胸苷酸合成酶的表达及其与胃癌的相关性研究. 中华胃肠外科杂志 2003; 6: 259-262
19 Fariña-Sarasqueta A, Gosens MJ, Moerland E, van Lijnschoten I, Lemmens VE, Slooter GD, Rutten HJ, van den Brule AJ. TS gene polymorphisms are not good markers of response to 5-FU therapy in stage III colon cancer patients. *Cell Oncol* (Dordr) 2011; 34: 327-335 [PMID: 21630057]
20 华东, 黄朝晖, 邓建忠, 茆勇. 胃癌组织中胸苷酸合成酶、胸苷磷酸化酶mRNA表达及其临床意义. 中国癌症杂志 2007; 17: 766-769
21 Brücher BL, Keller G, Werner M, Müller U, Lassmann S, Cabras AD, Fend F, Busch R, Stein H, Allescher HD, Molls M, Siewert JR, Höfler H, Specht K. Using Q-RT-PCR to measure cyclin D1, TS, TP, DPD, and Her-2/neu as predictors for response, survival, and recurrence in patients with esophageal squamous cell carcinoma following radiochemotherapy. *Int J Colorectal Dis* 2009; 24: 69-77 [PMID: 18704459 DOI: 10.1007/s00384-008-0562-5]
22 Zhou JY, Shi R, Yu HL, Zeng Y, Zheng WL, Ma WL. The association between two polymorphisms in the TS gene and risk of cancer: a systematic review and pooled analysis. *Int J Cancer* 2012; 131: 2103-2116 [PMID: 22307944 DOI: 10.1002/ijc.27465]
23 Zhuang W, Wu XT, Zhou Y, Liu GJ, Wu TX, Yao X, Du L, Wei ML. Polymorphisms of thymidylate synthase in the 5'- and 3'-untranslated regions and gastric cancer. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 1379-1385 [PMID: 18989779 DOI: 10.1007/s10620-008-0511-8]
24 Yoshimitsu S, Morita M, Hamachi T, Tabata S, Abe H, Tajima O, Uezono K, Ohnaka K, Kono S. Methionine synthase and thymidylate synthase gene polymorphisms and colorectal adenoma risk: the self defense forces study. *Mol Carcinog* 2012; 51 Suppl 1: E151-E157 [PMID: 22407825 DOI: 10.1002/mc.21895]
25 Canalle R, Silveira VS, Scrideli CA, Queiroz RG, Lopes LF, Tone LG. Impact of thymidylate synthase promoter and DNA repair gene polymorphisms

on susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Lymphoma* 2011; 52: 1118-1126 [PMID: 21463130 DOI: 10.3109/10428194.2011.559672]
26 Akisik E, Dalay N. Functional polymorphism of thymidylate synthase, but not of the COMT and IL-1B genes, is associated with breast cancer. *J Clin Lab Anal* 2007; 21: 97-102 [PMID: 17385677]
27 Rouissi K, Ouerhani S, Oliveira E, Marrakchi R, Cherni L, Ben Othman F, Ben Slama MR, Sfaxi M, Ayed M, Chebil M, Amorim A, Prata MJ, Benammar Elgaaied A. Polymorphisms in one-carbon metabolism pathway genes and risk for bladder cancer in a Tunisian population. *Cancer Genet Cytogenet* 2009; 195: 43-53 [PMID: 19837268 DOI: 10.1016/j.cancergencyto.2009.06.007]
28 Kobayashi H, Sugihara K, Uetake H, Higuchi T, Yasuno M, Enomoto M, Iida S, Azuma M, Mori R, Omori A, Lenz HJ, Danenberg KD, Danenberg PV. Messenger RNA expression of TS and ERCC1 in colorectal cancer and matched liver metastasis. *Int J Oncol* 2008; 33: 1257-1262 [PMID: 19020759]
29 Tanaka K, Saigusa S, Toiyama Y, Koike Y, Okugawa Y, Yokoe T, Inoue Y, Kobayashi M, Miki C, Kusunoki M. TS and DPD mRNA levels on formalin-fixed paraffin-embedded specimens as predictors for distant recurrence of rectal cancer treated with preoperative chemoradiotherapy. *J Surg Oncol* 2012; 105: 529-534 [PMID: 22006578 DOI: 10.1002/jso.22123]
30 Shimokawa H, Uramoto H, Onitsuka T, Iwata T, Nakagawa M, Ono K, Hanagiri T. TS expression predicts postoperative recurrence in adenocarcinoma of the lung. *Lung Cancer* 2011; 72: 360-364 [PMID: 20970877 DOI: 10.1016/j.lungcan.2010.08.024]
31 阎松, 牛荣丽, Edward Chu, 林秀坤. 胸苷酸合成酶表达调控的分子机制. 细胞生物学杂志 2005; 27: 105-108
32 Kaneko K, Nagai M, Murakami Y, Kogo M, Oyama T, Kojima T, Ohtsu A, Imawari M. TS gene tandem repeats in esophageal cancer patients receiving chemoradiotherapy. *Front Biosci* 2011; 16: 1036-1043 [PMID: 21196216]
33 Suh KW, Kim JH, Kim YB, Kim J, Jeong S. Thymidylate synthase gene polymorphism as a prognostic factor for colon cancer. *J Gastrointest Surg* 2005; 9: 336-342 [PMID: 15749593 DOI: 10.1016/j.gassur.2004.09.030]
34 Jennings BA, Kwok CS, Willis G, Matthews V, Wawruch P, Loke YK. Functional polymorphisms of folate metabolism and response to chemotherapy for colorectal cancer, a systematic review and meta-analysis. *Pharmacogenet Genomics* 2012; 22: 290-304 [PMID: 22388795 DOI: 10.1097/FPC.0b013e328351875d]
35 Kuramochi H, Tanaka K, Oh D, Lehman BJ, Dunst CM, Yang DY, De Meester SR, Hagen JA, Danenberg KD, De Meester TR, Danenberg PV. Thymidylate synthase polymorphisms and mRNA expression are independent chemotherapy predictive markers in esophageal adenocarcinoma patients. *Int J Oncol* 2008; 32: 201-208 [PMID: 18097560]
36 Huang ZH, Hua D, Li LH. The polymorphisms of TS and MTHFR predict survival of gastric cancer patients treated with fluorouracil-based adjuvant chemotherapy in Chinese population. *Cancer Chemother Pharmacol* 2009; 63: 911-918 [PMID: 18704422 DOI: 10.1007/s00280-008-0815-6]
37 Sobajima J, Haga N, Kumamoto K, Ishibashi K, Ishida H. [ERCC1 and TS expression in chemoradiotherapy treated esophageal squamous cell carcinoma]. *Gan To Kagaku Ryoho* 2010; 37: 2394-2396 [PMID: 21224584]
38 Park CM, Lee WY, Chun HK, Cho YB, Yun HR, Heo JS, Yun SH, Kim HC. Relationship of polymorphism of the tandem repeat sequence in the thymidylate synthase gene and the survival of stage III colorectal cancer patients receiving adjuvant 5-flurouracil-based chemotherapy. *J Surg Oncol* 2010; 101: 22-27 [PMID: 19798689 DOI: 10.1002/jso.21412]
39 Ichikawa W, Takahashi T, Suto K, Sasaki Y, Hirayama R. Orotate phosphoribosyltransferase gene polymorphism predicts toxicity in patients treated with bolus 5-fluorouracil regimen. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 3928-3934 [PMID: 16818689 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-05-2665]
40 Afzal S, Gusella M, Vainer B, Vogel UB, Andersen JT, Broedbaek K, Petersen M, Jimenez-Solem E, Bertolaso L, Barile C, Padrini R, Pasini F, Jensen SA, Poulsen HE. Combinations of polymorphisms in genes involved in the 5-Fluorouracil metabolism pathway are associated with gastrointestinal toxicity in chemotherapy-treated colorectal cancer patients. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 3822-3829 [PMID: 21471424 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-0304]
41 Peters EJ, Kraja AT, Lin SJ, Yen-Revollo JL, Marsh S, Province MA, McLeod HL. Association of thymidylate synthase variants with 5-fluorouracil cytotoxicity. *Pharmacogenet Genomics* 2009; 19: 399-401 [PMID: 19339911 DOI: 10.1097/FPC.0b013e328329fdec]
42 Scalvini A, Ferrari V, Bodei S, Arcangeli G, Consoli F, Spano P, Sigala S. Involvement of target gene polymorphisms in 5-Fluorouracil toxicity: a case report. *Pharmacology* 2012; 89: 99-102 [PMID: 22343422 DOI: 10.1159/000335784]
43 Kristensen MH, Pedersen PL, Melsen GV, Ellehauge J, Mejer J. Variants in the dihydropyrimidine dehydrogenase, methylenetetrahydrofolate reductase and thymidylate synthase genes predict early toxicity of 5-fluorouracil in colorectal cancer patients. *J Int Med Res* 2010; 38: 870-883 [PMID: 20819423]
44 Martinez-Balibrea E, Abad A, Martínez-Cardús A, Ginés A, Valladares M, Navarro M, Aranda E, Marcuello E, Benavides M, Massutí B, Carrato A, Layos L, Manzano JL, Moreno V. UGT1A and TYMS genetic variants predict toxicity and response of colorectal cancer patients treated with first-line irinotecan and fluorouracil combination therapy. *Br J Cancer* 2010; 103: 581-589 [PMID: 20628391 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605776]
45 Lee KH, Hur HS, Im SA, Lee J, Kim HP, Yoon YK, Han SW, Song SH, Oh DY, Kim TY, Bang YJ. RAD001 shows activity against gastric cancer cells and overcomes 5-FU resistance by downregulating thymidylate synthase. *Cancer Lett* 2010; 299: 22-28 [PMID: 20727673 DOI: 10.1016/j.canlet.2010.07.020]
46 Markova B, Hähnel PS, Kasper S, Herbertz S, Schuler M, Breitenbuecher F. Pharmacologic inhibition of mTOR antagonizes the cytotoxic activity of pemetrexed in non-small cell lung cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2012; 138: 545-554 [PMID: 22203472 DOI: 10.1007/s00432-011-1123-9]
47 Di Cresce C, Figueredo R, Ferguson PJ, Vincent MD, Koropatnick J. Combining small interfering RNAs targeting thymidylate synthase and thymidine kinase 1 or 2 sensitizes human tumor cells to 5-fluorodeoxyuridine and pemetrexed. *J Pharmacol*

Exp Ther 2011; 338: 952-963 [PMID: 21673071 DOI: 10.1124/jpet.111.183178]
48 Nabeya Y, Suzuki T, Furuya A, Koide N, Ohkoshi M, Takiguchi M, Ochiai T, Matsubara H, Hiwasa T. Calpain regulates thymidylate synthase-5-fluoro-dUMP complex levels associated with response to 5-fluorouracil in gastric cancer cells. *Cancer Sci* 2011; 102: 1509-1515 [PMID: 21561529 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2011.01978.x]
49 Wilson PM, LaBonte MJ, Lenz HJ, Mack PC, Ladner RD. Inhibition of dUTPase induces synthetic lethality with thymidylate synthase-targeted therapies in non-small cell lung cancer. *Mol Cancer Ther* 2012; 11: 616-628 [PMID: 22172489 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-11-0781]
50 Miyahara S, Miyakoshi H, Yokogawa T, Chong KT, Taguchi J, Muto T, Endoh K, Yano W, Wakasa T, Ueno H, Takao Y, Fujioka A, Hashimoto A, Itou K, Yamamura K, Nomura M, Nagasawa H, Shuto S, Fukuoka M. Discovery of a novel class of potent human deoxyuridine triphosphatase inhibitors remarkably enhancing the antitumor activity of thymidylate synthase inhibitors. *J Med Chem* 2012; 55: 2970-2980 [PMID: 22339362 DOI: 10.1021/jm201628y]
51 Ladner RD. The role of dUTPase and uracil-DNA repair in cancer chemotherapy. *Curr Protein Pept Sci* 2001; 2: 361-370 [PMID: 12374095 DOI: 10.2174/1389203013380991]

编辑 田滢 电编 闫晋利

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

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775

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

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

世界华人消化杂志 2013年4月8日; 21(10): 873-879
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

肝星状细胞与转移性肝肿瘤

徐向南, 肖永胜, 樊 嘉

徐向南, 肖永胜, 樊嘉, 复旦大学附属中山医院肝癌研究所 上海市 200032
徐向南, 博士, 主要从事肿瘤微环境的相关研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81141087
作者贡献分布: 本文综述由徐向南与肖永胜完成; 樊嘉负责审校.
通讯作者: 樊嘉, 教授, 博士生导师, 200032, 上海市徐汇区医学院路136号, 复旦大学附属中山医院肝癌研究所.
jiafan99@yahoo.com
收稿日期: 2013-01-22 修回日期: 2013-02-16
接受日期: 2013-03-14 在线出版日期: 2013-04-08

Hepatic stellate cells and metastatic liver neoplasms

Xiang-Nan Xu, Yong-Sheng Xiao, Jia Fan

Xiang-Nan Xu, Yong-Sheng Xiao, Jia Fan, Liver Cancer Institute and Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China
Supported by: the National Nature Science Foundation of China, No. 81141087
Correspondence to: Jia Fan, Professor, Liver Cancer Institute & Zhongshan Hospital, Fudan University, 136 Yixueyuan Road, Xuhui District, Shanghai 200032, China. jiafan99@yahoo.com
Received: 2013-01-22 Revised: 2013-02-16
Accepted: 2013-03-14 Published online: 2013-04-08

Abstract

Hepatic stellate cells (HSCs) were first described in the 19th century as a type of multi-functional mesenchymal cells. They are considered as the component of liver microenvironment because of their capacity to differentiate into myofibroblasts which are highly proliferative and have collagen secretion capacity. This paper reviews the interactions between tumor cells and HSCs in liver microenvironment and discusses mechanisms by which tumor-derived factors activate HSCs, and in turn, activated HSC promotes metastatic tumor growth. The interactions between tumor cells and HSCs in liver microenvironment can be regarded as an "amplification loop". The activation of HSCs is a complex process that is regulated by multiple pathways, such as the transforming growth factor-β and platelet-derived growth factor signaling pathways. HSCs provide a possible therapeutic target for liver metastases to effectively increase the survival of patients.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Hepatic stellate cells; Liver metastases; Microenvironment; Neoplasm

Xu XN, Xiao YS, Fan J. Hepatic stellate cells and metastatic liver neoplasms. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(10): 873-879 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/873.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i10.873

摘要

作为一种多能的间质细胞, 肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSC)最早是由Kupffer在19世纪首次描述, 因其可以分化为高增殖性并具有胶原分泌能力的肌成纤维细胞, 从而参与促结缔组织增生与转移性肿瘤生长而被视为肝脏微环境的一部分. 本文旨在就肿瘤细胞与HSC在肝脏微环境中的相互关系作一综述, 并讨论肿瘤来源因子激活HSC促进肿瘤生长转移的机制. 可以将肝肿瘤细胞与HSC在肝脏微环境中的相互关系形象地视为一个"放大回路". HSC的激活是一个由转化生长因子-β(transforming growth factor-β)与血小板源性生长因子(platelet-derived growth factor)信号通路等多种因素调节的复杂过程. HSC为预防肿瘤转移提供了可能的治疗靶点, 进而有效地控制肿瘤的转移并提高患者的生存率.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 肝星状细胞; 肝转移; 微环境; 肿瘤

核心提示: 可以将肝肿瘤细胞与肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSC)在肝脏微环境中的相互关系形象地视为一个"放大回路". HSC的激活是一个由转化生长因子-β(transforming growth factor-β)与血小板源性生长因子(platelet-derived growth factor)信号通路等多种因素调节的复杂过程. HSC为预防肿瘤转移提供了可能的靶点, 进而有效地减少肿瘤的转移并提高患者的生存率.

徐向南, 肖永胜, 樊嘉. 肝星状细胞与转移性肝肿瘤. 世界华人消化杂志 2013; 21(10): 873-879 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/873.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i10.873

■背景资料
肝星状细胞(HSC)因其可以分化为高增殖性并具有胶原分泌能力的肌成纤维细胞(MFB)从而参与促结缔组织增生与转移性肿瘤生长而被视为肝脏微环境的一部分. 本文旨在就肿瘤细胞与HSC在肝脏微环境中的相互关系做一综述.

■同行评议者
麻勇, 副研究员, 哈尔滨医科大学附属第一医院肝脏外科; 徐泱, 副主任医师, 上海复旦大学附属中山医院

■研发前沿
HSC作为肝脏肿瘤微环境中重要的组成部分之一, 其在肿瘤发生与转移中所起的作用及激活后促结缔组织增生与转移性肿瘤生长的机制是当前的研究热点.

0 引言

肝脏是诸如胃肠道癌、乳癌、肺癌、神经内分泌癌及肉瘤等许多原发性恶性肿瘤的通常转移器官[1], 并且肝转移癌仍是患者死亡的主要原因[2], 提示其可能为肿瘤细胞提供了一个利转移的微环境. 这样的微环境由细胞组分与非细胞组分两部分构成[1,3], 其中非细胞组分有生长因子与细胞因子, 例如: 转化生长因子-β(transforming growth factor-β, TGF-β)、血小板源性生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)、肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)、细胞外基质(extracellular matrix, ECM)、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)以及金属蛋白酶的组织抑制因子(tissue inhibitors of metalloproteinases, TIMPs). 细胞组分有肝细胞、窦内皮细胞、肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)、成纤维细胞及免疫细胞, 如淋巴细胞与Kupffer细胞. HSC是一种肝脏特异性的多能间质细胞, 本文将着重阐述. HSC在肝纤维化与门脉高压中起决定性作用[4], 因其可以分化为高增殖性并具有胶原分泌能力的肌成纤维细胞(myofibroblast, MFB), 从而参与促结缔组织增生与转移性肿瘤生长而被视为肝脏微环境的一部分[1,3,5]. 除了HSC, 骨髓来源的纤维细胞, 门管区成纤维细胞, 肝细胞或是胆管细胞都是MFB的可能来源[4]. 本文旨在就肿瘤细胞与HSC在肝脏微环境中的相互关系做一综述, 并讨论肿瘤来源因子激活HSC促进肿瘤生长转移的机制.

1 肝转移灶的形成依赖于肿瘤细胞与肝脏特异性基质因子的相互作用

现今有出两种理论可以用来解释肿瘤细胞这种优先转移至肝脏的器官特异性播散现象: (1)种子与土壤学说, 他认为这是由种子(即肿瘤细胞)对土壤(即特异性器官)的依赖性所决定的[6-8]; (2)1920s由Ewing提出的理论则假设机械因素(诸如循环模式、血流模式及肿瘤细胞初次接触的一级毛细血管床对其特异性地捕获)是这种器官特异性播散现象必须条件[8]. 现有的研究指出, 这两种理论并不互斥, 肿瘤细胞的器官特异性播散是在机械与种子-土壤通用性两种因素协同作用下而得以实现的[8].

肝脏的血流动力学特征及其独特的微环境使得肝脏成为最常见的肿瘤转移靶器官. 凭借肝脏独特解剖位置及其毛细血管窦内曲折的血流, 肝脏能有效地捕获循环肿瘤细胞, 尤其是胃肠道来源的癌细胞. 但是, 并非所有的肿瘤细胞都能在肝脏内形成存活的转移灶. 通过肝脏转移模型显示: 将B16F1黑色素瘤细胞从门静脉内注入, 只有不到0.02%的肿瘤细胞能在肝脏内发展为可见的转移灶[9]. 在发展为肉眼可见的转移灶前, 肿瘤细胞必须经历多个选择性步骤, 包括: (1)在先天性免疫反应下存活; (2)外渗至肝脏实质; (3)新生血管形成前的微转移; (4)新生血管增生与转移肿瘤细胞的增殖[1,2]. 在以上所有的步骤中, 第2及第4步是其中的限速步骤. 这就提示肝脏转移癌的形成高度依赖于肿瘤细胞与肿瘤细胞激活的肝脏特异性基质因子的相互作用. 最近的研究提示HSC可能就是其中一个重要的基质因子.

2 肿瘤细胞激活HSC

最近的研究证据显示HSC由肿瘤所激活. 通过将肿瘤细胞注入脾脏2 d后发现, 肿瘤细胞移居至肝脏Disse间隙内并紧邻HSC, 提示在体内肿瘤细胞与HSC有直接的相互作用; 另一方面我所通过比较肿瘤细胞诱导激活的HSC与常规培养激活的HSC之间基因表达情况发现, 诱导激活的HSC特异性地表达1 976个基因, 这些基因负责编码包括促炎因子、黏附分子、细胞表面分子、免疫及信号传导等一系列与肿瘤生成生存相关的基质因子, 也提示肿瘤细胞能特异性地激活HSC[10]. 体外实验中发现肿瘤细胞的条件培养基能激活HSC更进一步证实了这一结论[11]. 肿瘤的条件培养基以剂量依赖性的方式促进HSC的增殖与表达MFB特征性的α-平滑肌肌动蛋白(α-smooth muscle actin, α-SMA)阳性应力纤维[11]. 体外实验发现, 肝癌微环境中所富有的TGF-β可以诱导HSC分化为MFB[12]. 结合之前所述HSC在肿瘤发生发展中所起的作用, 我们可以得出结论: HSC与肿瘤细胞存在双向作用并且以一种类似于"放大回路"的方式促进肝内肿瘤细胞的转移生长. HSC在肿瘤微环境中的激活是一个复杂的过程, 他需要在肿瘤细胞的旁分泌刺激与HSC的细胞内因子作用下共同完成. TGF-β与PDGF是体外调节HSC激活最有效的两个因子. TGF-β对于HSC激活的调节是通过TGF-β/Smd2依赖性信号通路介导的[12]. PDGF作为对HSC最有效的生存因子及分裂素之一, 他的作用是通过诸如Ras/Erk与PI3K等关键信号通

路达成的[13]. 除了TGF-β和PDGF, 受体介导的信号级联反应、ECM介导的整合素激活也参与其中[13,14]. 鉴于肝脏肿瘤微环境的复杂性, 肝脏的其他组分也可能会与肿瘤细胞及HSC互相作用, 从而有利于HSC的激活与肿瘤的转移生长. 例如: Kupffer细胞可通过释放TGF-β1调节HSC的激活[15], 而内皮细胞则通过产生一氧化氮来抑制HSC的激活[16,17], 肝内局部浸润调节性T细胞(regulatory T cell, Treg)亦可能通过分泌TGF-β1及细胞间的直接接触促进HSC的增殖与透明质酸的分泌[18].

3 激活的肝星状细胞促进利转移微环境的形成

3.1 HSC通过转化为MFB促进肿瘤生长 与肝损伤后激活HSC的过程相似, 静息及未分化的HSC被肿瘤细胞激活后其表型获得了极大地改变并转化为MFB. 其表型的改变包括: 表达α-SMA与肌腱蛋白C, 运动性与增殖性的增强, 分泌更多的生长因子及细胞外基质. 尽管MFB可来源于HSC、骨髓来源的纤维细胞、门管区成纤维细胞以及上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)后的肝细胞与胆管细胞, 但是HSC始终是肝小叶肝血窦内发生肿瘤转移时被激活并转化为MFB数量最多的一种细胞[1]. 也有学者通过细胞发育制图技术研究证明HSC、肝细胞、胆管细胞极有可能来源于同一个祖先细胞, 在特定损伤刺激下, 通过EMT/(mesenchymal-epithelial transition, MET)转化而来[19], 共同参与肝纤维化的过程. 但Scholten等[20]所做的转基因鼠实验未能证实HSC可以发生MET, 表明直接的体内试验证据仍不充分. 综合体内与体外实验数据可以发现, 激活的HSC促进肿瘤细胞的侵袭、增殖与存活. 在体外实验中将肿瘤细胞与HSC共培养可以明显地提高肿瘤细胞的增殖与侵袭能力[21]. 在三维球形共培养系统中也可以得到了相似的结论, 激活的HSC能促进肿瘤细胞的生长并减少肿瘤球内部的坏死范围[22]. 与以上数据一致, 使用激活的HSC所制备的条件培养基也表现出了与体外实验一致的增强肿瘤细胞增殖、迁移与侵袭的能力[11,22-24]. 在体内实验中, 将激活的HSC或MFB与肿瘤细胞共同移植入裸鼠都可导致伴随血管增生的肿瘤形成[11,22,23,25]. 进一步将Lewis肺癌细胞植入裸鼠门静脉的实验则显示出肝内转移癌的生长与MFB的密度呈正相关[12]. 通过分析130例人肝细胞肝癌病例中激活的HSC用以评估预后的潜能, 发现激活的HSC是影响复发率与死亡率的独立影响因素[26]. 激活的HSC还与高早期转移率相关提示他能增强肿瘤细胞在肝内播散的能力[27]. 还有发现肝内胆管细胞癌并伴随高α-SMA表达的患者预后更差[21]. 综上所述, 激活的HSC可能提供了一个促转移性肿瘤细胞生长的微环境.

3.2 HSC为肿瘤细胞提供生长因子与细胞因子 激活的HSC能够分泌更多的生长因子与细胞因子刺激肿瘤细胞的增殖、黏附与迁移. Shimizu等[28]已鉴定出激活HSC的条件培养基中含有PDGF-AB、HGF与TGF-β, 能够在体外增强结肠癌细胞LM-H3的增殖与迁移能力. 由激活的HSC分泌的TGF-β以旁分泌的形式作用于肿瘤细胞, 从而导致肿瘤发生并诱导肿瘤细胞的自分泌TGF-β信号通路[25]. 研究发现在肝癌转移过程中激活的HSC分泌基质细胞衍生因子1(stromal cell-derived factor-1, SDF-1), 而结直肠癌细胞则表达其配体CXCR4[27]. 体外实验显示SDF-1/CXCR4这一旁分泌信号传导通路能促进肿瘤细胞的侵袭并防止其凋亡[27]. 激活后HSC分泌的HGF可通过PI3K途径[29]促进肿瘤细胞EMT的发生[30]. 由此可见, 激活的HSC通过为肿瘤细胞提供生长因子与细胞因子促进肿瘤的生长与转移.

3.3 HSC重塑细胞外基质 ECM的高度重构有助于肿瘤细胞的侵袭与进展. MMPs与TIMP2在降解细胞基底膜中起着重要的作用, 使得肿瘤细胞得以穿过组织界限, 继而发展为远处转移. 原位杂交与免疫酶谱分析发现, 在肝转移发生前激活的HSC内就能表达MMP2与TIMP2 mRNA, 并且较之无瘤肝脏标本, 肝转移标本中发现了较高水平的MMP2 mRNA与酶活性; 另一方面, 在人肝癌转移发生前, 发现激活的HSC表达并分泌ADAM9, 他能破除层黏连蛋白并与肿瘤细胞结合, 从而促进肿瘤细胞的侵袭[24]. 激活的HSC分泌的HGF可以促进肝肿瘤细胞的EMT发生, 使其表达更多的MMP2及MMP9, 从而促进肿瘤的转移[31]. 以上数据都提示HSC在降解ECM过程中通过产生蛋白水解酶促进肿瘤细胞的侵袭. HSC是肝脏纤维化过程中分泌ECM最主要的一种细胞[4,5], 这一过程可能也有助于HSC的利转移与促生长功效. 在肝癌的微环境中, 肿瘤细胞分泌的TGF-β除了可以诱导HSC生产更多的纤维连接蛋白与Ⅰ型胶原等细胞外基质组分外, 还具有明显的促肝细胞EMT

■创新盘点

本文将肿瘤细胞与HSC之间的双向作用归纳为“放大回路”模式并进行阐述, 同时总结肿瘤细胞激活HSC的机制, 详细阐述了转化生长因子-β与血小板源性生长因子信号通路, 介绍了该领域的最新研究成果.

■应用要点
本文阐述了HSC作为肝脏肿瘤转移微环境中的一个组成部分，肿瘤细胞与HSC之间的双向作用以“放大回路”的方式促进肿瘤细胞的肝转移. HSC的激活是一个由TGF-β与PDGF信号通路等多种因素调节的复杂过程，提示其有可能成为预防肿瘤转移的靶点，从而有效地减少肿瘤的转移并提高患者的生存率.

作用，可以使上皮细胞极性消失，上调间质细胞相关蛋白如波形蛋白等，增加胶原合成，从而促进肝脏纤维化[32]. 正是这些细胞外基质组分为肿瘤细胞的黏附与生长提供了一个合适的微环境. 除了为肿瘤细胞提供物理性支持以外，细胞外基质组分还通过结合及激活肿瘤细胞表面的整合蛋白调控肿瘤细胞的黏附、侵袭及生存能力[29,33]. 例如：由ECM介导的PI3K的激活可以提高肿瘤细胞对化疗药物的抗性，从而减少肿瘤细胞的凋亡[34]. 另一方面，因结缔组织生成而导致的血供缺乏则为药物到达肿瘤细胞制造了障碍[35]. 总而言之，HSC调节导致的过量ECM在肿瘤的黏附、侵袭与生存过程中起着重要的作用.

3.4 HSC促进肿瘤血管生成 激活后的HSC除了表达α-SMA，而且还表达一些平滑肌细胞标记，包括平滑肌肌动蛋白重链、高-钙调蛋白及心肌蛋白等，这些都提示在肿瘤血管生成过程中，HSC拥有类似于血管周细胞的功能[36]. HSC与内皮细胞的三维共培养结果显示出一种生理性血管装配模型，即HSC作为内部核心而表面则由内皮细胞构成[36]. 机制上来说，激活的HSC通过分泌VEGF及血管生成素1，2等多种血管生成因子激活内皮细胞表面受体促进他们的功能[23,32,37,38]. 肿瘤微环境中常见的缺氧环境同样能增强HSC分泌VEGF的能力，林道浙等[39]认为门静脉血VEGF水平，大肠癌组织VEGF阳性表达与肝转移密切相关，门静脉血VEGF≥250 μg/L且癌组织VEGF表达阳性者肝转移发生率最高；另一方面，HSC来源的ECM通过激活内皮细胞内的信号级联放大通路促进血管生成[34]. 综上所述，HSC可以促进肿瘤血管生成，进而促进肿瘤转移性生长.

3.5 HSC抑制抗肿瘤免疫反应 尽管通过促结缔增生反应制造物理性屏障将肿瘤细胞与炎症细胞分隔开，从而逃避免疫打击早已被大家所认识，但HSC的免疫调节作用最近才受人关注. HSCs的免疫抑制功能表现在产生抑制性细胞因子、诱导特异性细胞毒性T细胞凋亡、促进Treg扩增等[40]. 体外实验中发现，HSC可以抑制T细胞的增殖，而这种免疫抑制能力是通过分泌B7-H1与T细胞表面受体结合继而抑制增殖与诱导凋亡达成的[41,42]. 在体内试验中，通过比较肿瘤组织内的浸润淋巴细胞发现，较之单纯的HCC植入组，HSC与HCC共植入组的肿瘤组织内含有更少的$CD3^+$、$CD4^+$及$CD8^+$淋巴细胞，并且共植入组的凋亡指数是单独组的两倍[23]. 除了以上数据，多项研究显示，激活的HSC还能产生具有强免疫抑制能力的TGF-β及白介素-10(interleukin-10, IL-10)[43,44]. 活化的HSCs与Treg在数量上呈正相关，且与患者的不良预后密切相关[23]. 另有学者研究发现，HSCs通过增加Treg，抑制效应性T的细胞不良反应，从而使HCC细胞逃避机体的免疫监视而迅速增殖[23,45]. 由此可见，HSC促进肿瘤细胞的侵袭与转移部分与其免疫抑制作用有关.

4 HSC可作为治疗转移性肿瘤转移的靶点

尽管TGF-β在肿瘤组织活检中体现出其作用的复杂性，因其根据肿瘤的恶性程度既能抑制又能促进肿瘤生长，但是TGF-β的过表达与肿瘤转移及较差的预后相关这一概念已被广泛接受[44,46]. 由于TGF-β是对于HSC激活及肿瘤结缔组织增生最有效的细胞因子之一，因此针对TGF-β通路的治疗则提供了一种肿瘤细胞与基质细胞并重的治疗策略. TGF-β拮抗剂的临床应用可以通过其在肿瘤微环境中的部分抑制效应而防止肿瘤转移. 用于肝细胞癌、肾癌治疗的索拉非尼体外具有抑制TGF-β信号通路的作用[47]. 此外格列卫、舒尼替尼及索拉非尼等已被认可的抗癌药物针对的都是HSC激活的另外一个细胞因子PDGF受体的多种酪氨酸激酶抑制剂，这些药物在一定程度上可抑制结缔组织增生反应及肿瘤-基质的相互作用. 事实上，通过肝纤维化动物模型试验已经验证了这些药物可以在体内抑制HSC的激活及肝脏纤维化并用以治疗癌症患者[40,48-50]，现已经投入临床应用并取得不俗的疗效. 此外，传统中药熊胆也已通过体外实验证明其抑制HSCs所介导的免疫抑制活性的作用[51]，显示其可能也有治疗及预防肿瘤转移的潜能.

5 结论

HSC可被视为肝脏利肿瘤转移微环境中的一个组成部分. 肿瘤细胞诱导HSC的激活，继而激活的HSC刺激转移性肿瘤细胞的生长. 肿瘤细胞与HSC之间的双向作用以“放大回路”的方式促进肿瘤细胞的肝转移. HSC的激活是一个由TGF-β与PDGF信号通路等多种因素调节的复杂过程，为预防肿瘤转移提供了可能的治疗靶点，从而有效地减少肿瘤的转移并提高患者的生存率.

6 参考文献

1 Vidal-Vanaclocha F. The prometastatic microenvironment of the liver. *Cancer Microenviron* 2008; 1: 113-129 [PMID: 19308690 DOI: 10.1007/s12307-008-0011-6]
2 Ahmad SA, Berman RS, Ellis LM. Biology of colorectal liver metastases. *Surg Oncol Clin N Am* 2003; 12: 135-150 [PMID: 12735135 DOI: 10.1016/S1055-3207(02)00078-9]
3 Yang JD, Nakamura I, Roberts LR. The tumor microenvironment in hepatocellular carcinoma: current status and therapeutic targets. *Semin Cancer Biol* 2011; 21: 35-43 [PMID: 20946957 DOI: 10.1016/j.semcancer.2010.10.007]
4 Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology* 2008; 134: 1655-1669 [PMID: 18471545 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.03.003]
5 Kalluri R, Zeisberg M. Fibroblasts in cancer. *Nat Rev Cancer* 2006; 6: 392-401 [PMID: 16572188 DOI: 10.1038/nrc1877]
6 Paget S. The distribution of secondary growths in cancer of the breast. *The Lancet* 1889; 133: 571-573 [DOI: 10.1016/S0140-6736(00)49915-0]
7 Paget S. The distribution of secondary growths in cancer of the breast. 1889. *Cancer Metastasis Rev* 1989; 8: 98-101 [PMID: 2673568]
8 Chambers AF, Groom AC, MacDonald IC. Dissemination and growth of cancer cells in metastatic sites. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 563-572 [PMID: 12154349 DOI: 10.1038/nrc865]
9 Luzzi KJ, MacDonald IC, Schmidt EE, Kerkvliet N, Morris VL, Chambers AF, Groom AC. Multistep nature of metastatic inefficiency: dormancy of solitary cells after successful extravasation and limited survival of early micrometastases. *Am J Pathol* 1998; 153: 865-873 [PMID: 9736035 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)65628-3]
10 Xia Y, Chen R, Song Z, Ye S, Sun R, Xue Q, Zhang Z. Gene expression profiles during activation of cultured rat hepatic stellate cells by tumoral hepatocytes and fetal bovine serum. *J Cancer Res Clin Oncol* 2010; 136: 309-321 [PMID: 19727817 DOI: 10.1007/s00432-009-0666-5]
11 Okabe H, Beppu T, Hayashi H, Ishiko T, Masuda T, Otao R, Horlad H, Jono H, Ueda M, Phd SS, Ando Y, Baba H. Hepatic stellate cells accelerate the malignant behavior of cholangiocarcinoma cells. *Ann Surg Oncol* 2011; 18: 1175-1184 [PMID: 21042948 DOI: 10.1245/s10434-010-1391-7]
12 Tang LX, He RH, Yang G, Tan JJ, Zhou L, Meng XM, Huang XR, Lan HY. Asiatic acid inhibits liver fibrosis by blocking TGF-beta/Smad signaling in vivo and in vitro. *PLoS One* 2012; 7: e31350 [PMID: 22363627 DOI: 10.1371/journal.pone.0031350]
13 Eng FJ, Friedman SL. Transcriptional regulation in hepatic stellate cells. *Semin Liver Dis* 2001; 21: 385-395 [PMID: 11586467 DOI: 10.1055/s-2001-17553]
14 Mann J, Mann DA. Transcriptional regulation of hepatic stellate cells. *Adv Drug Deliv Rev* 2009; 61: 497-512 [PMID: 19393271 DOI: 10.1016/j.addr.2009.03.011]
15 Wang J, Leclercq I, Brymora JM, Xu N, Ramezani-Moghadam M, London RM, Brigstock D, George J. Kupffer cells mediate leptin-induced liver fibrosis. *Gastroenterology* 2009; 137: 713-723 [PMID: 19375424 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.04.011]
16 Lee JS, Kang Decker N, Chatterjee S, Yao J, Friedman S, Shah V. Mechanisms of nitric oxide interplay with Rho GTPase family members in modulation of actin membrane dynamics in pericytes and fibroblasts. *Am J Pathol* 2005; 166: 1861-1870 [PMID: 15920170 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)62495-9]
17 Langer DA, Das A, Semela D, Kang-Decker N, Hendrickson H, Bronk SF, Katusic ZS, Gores GJ, Shah VH. Nitric oxide promotes caspase-independent hepatic stellate cell apoptosis through the generation of reactive oxygen species. *Hepatology* 2008; 47: 1983-1993 [PMID: 18459124 DOI: 10.1002/hep.22285]
18 陆小蒴, 陈永平, 阳韬, 程瑗, 金晓芝, 申春燕, 刘俊, 王春莹, 王晓东, 林镯. 调节性T细胞对肝星状状细胞增殖及透明质酸分泌的影响. 临床肝胆杂志 2012; 28: 39-43
19 Yang L, Jung Y, Omenetti A, Witek RP, Choi S, Vandongen HM, Huang J, Alpini GD, Diehl AM. Fate-mapping evidence that hepatic stellate cells are epithelial progenitors in adult mouse livers. *Stem Cells* 2008; 26: 2104-2113 [PMID: 18511600 DOI: 10.1634/stemcells.2008-0115]
20 Scholten D, Osterreicher CH, Scholten A, Iwaisako K, Gu G, Brenner DA, Kisseleva T. Genetic labeling does not detect epithelial-to-mesenchymal transition of cholangiocytes in liver fibrosis in mice. *Gastroenterology* 2010; 139: 987-998 [PMID: 20546735 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.05.005]
21 Okabe H, Beppu T, Hayashi H, Horino K, Masuda T, Komori H, Ishikawa S, Watanabe M, Takamori H, Iyama K, Baba H. Hepatic stellate cells may relate to progression of intrahepatic cholangiocarcinoma. *Ann Surg Oncol* 2009; 16: 2555-2564 [PMID: 19548033 DOI: 10.1245/s10434-009-0568-4]
22 Amann T, Bataille F, Spruss T, Mühlbauer M, Gäbele E, Schölmerich J, Kiefer P, Bosserhoff AK, Hellerbrand C. Activated hepatic stellate cells promote tumorigenicity of hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci* 2009; 100: 646-653 [PMID: 19175606 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2009.01087.x]
23 Zhao W, Zhang L, Yin Z, Su W, Ren G, Zhou C, You J, Fan J, Wang X. Activated hepatic stellate cells promote hepatocellular carcinoma development in immunocompetent mice. *Int J Cancer* 2011; 129: 2651-2661 [PMID: 21213212 DOI: 10.1002/ijc.25920]
24 Mazzocca A, Coppari R, De Franco R, Cho JY, Libermann TA, Pinzani M, Toker A. A secreted form of ADAM9 promotes carcinoma invasion through tumor-stromal interactions. *Cancer Res* 2005; 65: 4728-4738 [PMID: 15930291 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-4449]
25 Mikula M, Proell V, Fischer AN, Mikulits W. Activated hepatic stellate cells induce tumor progression of neoplastic hepatocytes in a TGF-beta dependent fashion. *J Cell Physiol* 2006; 209: 560-567 [PMID: 16883581 DOI: 10.1002/jcp.20772]
26 Ju MJ, Qiu SJ, Fan J, Xiao YS, Gao Q, Zhou J, Li YW, Tang ZY. Peritumoral activated hepatic stellate cells predict poor clinical outcome in hepatocellular carcinoma after curative resection. *Am J Clin Pathol* 2009; 131: 498-510 [PMID: 19289585 DOI: 10.1309/AJCP86PPBNGOHNNL]
27 Matsusue R, Kubo H, Hisamori S, Okoshi K, Takagi

■同行评价

本文总结了肿瘤细胞与HSC在肝脏微环境中的相互关系及HSC促进肿瘤生长转移的机制, 具有较好的参考价值; 文章内容较为全面, 基本反映该领域的最新研究成果, 学术价值很好.

H, Hida K, Nakano K, Itami A, Kawada K, Nagayama S, Sakai Y. Hepatic stellate cells promote liver metastasis of colon cancer cells by the action of SDF-1/CXCR4 axis. *Ann Surg Oncol* 2009; 16: 2645-2653 [PMID: 19588204 DOI: 10.1245/s10434-009-0599-x]

28 Shimizu S, Yamada N, Sawada T, Ikeda K, Kawada N, Seki S, Kaneda K, Hirakawa K. In vivo and in vitro interactions between human colon carcinoma cells and hepatic stellate cells. *Jpn J Cancer Res* 2000; 91: 1285-1295 [PMID: 11123428 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2000.tb00916.x]

29 Nagaprashantha LD, Vatsyayan R, Lelsani PC, Awasthi S, Singhal SS. The sensors and regulators of cell-matrix surveillance in anoikis resistance of tumors. *Int J Cancer* 2011; 128: 743-752 [PMID: 20949625 DOI: 10.1002/ijc.25725]

30 Guarino M. Epithelial-mesenchymal transition and tumour invasion. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39: 2153-2160 [PMID: 17825600 DOI: 10.1016/j.biocel.2007.07.011]

31 王庆军, 孙抒, 李宏丹, 魏嘉, 苏荣健. 肝细胞生长因子对肝细胞癌侵袭和转移的影响. 世界华人消化杂志 2008; 16: 3152-3156

32 Kaimori A, Potter J, Kaimori JY, Wang C, Mezey E, Koteish A. Transforming growth factor-beta1 induces an epithelial-to-mesenchymal transition state in mouse hepatocytes in vitro. *J Biol Chem* 2007; 282: 22089-22101 [PMID: 17513865 DOI: 10.1074/jbc.M700998200]

33 Cox D, Brennan M, Moran N. Integrins as therapeutic targets: lessons and opportunities. *Nat Rev Drug Discov* 2010; 9: 804-820 [PMID: 20885411 DOI: 10.1038/nrd3266]

34 Hodkinson PS, Mackinnon AC, Sethi T. Extracellular matrix regulation of drug resistance in small-cell lung cancer. *Int J Radiat Biol* 2007; 83: 733-741 [PMID: 17852559 DOI: 10.1080/09553000701570204]

35 Olive KP, Jacobetz MA, Davidson CJ, Gopinathan A, McIntyre D, Honess D, Madhu B, Goldgraben MA, Caldwell ME, Allard D, Frese KK, Denicola G, Feig C, Combs C, Winter SP, Ireland-Zecchini H, Reichelt S, Howat WJ, Chang A, Dhara M, Wang L, Rückert F, Grützmann R, Pilarsky C, Izeradjene K, Hingorani SR, Huang P, Davies SE, Plunkett W, Egorin M, Hruban RH, Whitebread N, McGovern K, Adams J, Iacobuzio-Donahue C, Griffiths J, Tuveson DA. Inhibition of Hedgehog signaling enhances delivery of chemotherapy in a mouse model of pancreatic cancer. *Science* 2009; 324: 1457-1461 [PMID: 19460966 DOI: 10.1126/science.1171362]

36 Wirz W, Antoine M, Tag CG, Gressner AM, Korff T, Hellerbrand C, Kiefer P. Hepatic stellate cells display a functional vascular smooth muscle cell phenotype in a three-dimensional co-culture model with endothelial cells. *Differentiation* 2008; 76: 784-794 [PMID: 18177423 DOI: 10.1111/j.1432-0436.2007.00260.x]

37 Torimura T, Ueno T, Kin M, Harada R, Taniguchi E, Nakamura T, Sakata R, Hashimoto O, Sakamoto M, Kumashiro R, Sata M, Nakashima O, Yano H, Kojiro M. Overexpression of angiopoietin-1 and angiopoietin-2 in hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2004; 40: 799-807 [PMID: 15094228 DOI: 10.1016/j.jhep.2004.01.027]

38 Olaso E, Salado C, Egilegor E, Gutierrez V, Santisteban A, Sancho-Bru P, Friedman SL, Vidal-Vanaclocha F. Proangiogenic role of tumor-activated hepatic stellate cells in experimental melanoma metastasis. *Hepatology* 2003; 37: 674-685 [PMID: 12601365 DOI: 10.1053/jhep.2003.50068]

39 林道浙, 陈积贤, 潘升华, 郑一双, 李克诚, 余铭, 吴伟力, 张仁虎, 梁美珍, 林肖, 贺新伟. 门静脉血血管内皮生长因子测定联合免疫组化预测大肠癌患者肝转移的研究. 中国全科医学 2010; 13: 1416-1417

40 Yang HR, Chou HS, Gu X, Wang L, Brown KE, Fung JJ, Lu L, Qian S. Mechanistic insights into immunomodulation by hepatic stellate cells in mice: a critical role of interferon-gamma signaling. *Hepatology* 2009; 50: 1981-1991 [PMID: 19821484 DOI: 10.1002/hep.23202]

41 Yu MC, Chen CH, Liang X, Wang L, Gandhi CR, Fung JJ, Lu L, Qian S. Inhibition of T-cell responses by hepatic stellate cells via B7-H1-mediated T-cell apoptosis in mice. *Hepatology* 2004; 40: 1312-1321 [PMID: 15565659 DOI: 10.1002/hep.20488]

42 Chen CH, Kuo LM, Chang Y, Wu W, Goldbach C, Ross MA, Stolz DB, Chen L, Fung JJ, Lu L, Qian S. In vivo immune modulatory activity of hepatic stellate cells in mice. *Hepatology* 2006; 44: 1171-1181 [PMID: 17058227 DOI: 10.1002/hep.21379]

43 Friedman SL. Hepatic stellate cells: protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver. *Physiol Rev* 2008; 88: 125-172 [PMID: 18195085 DOI: 10.1152/physrev.00013.2007]

44 Yingling JM, Blanchard KL, Sawyer JS. Development of TGF-beta signalling inhibitors for cancer therapy. *Nat Rev Drug Discov* 2004; 3: 1011-1022 [PMID: 15573100 DOI: 10.1038/nrd1580]

45 Zhao W, Su W, Kuang P, Zhang L, Liu J, Yin Z, Wang X. The role of hepatic stellate cells in the regulation of T-cell function and the promotion of hepatocellular carcinoma. *Int J Oncol* 2012; 41: 457-464 [PMID: 22641338 DOI: 10.3892/ijo.2012.1497]

46 Nam JS, Terabe M, Mamura M, Kang MJ, Chae H, Stuelten C, Kohn E, Tang B, Sabzevari H, Anver MR, Lawrence S, Danielpour D, Lonning S, Berzofsky JA, Wakefield LM. An anti-transforming growth factor beta antibody suppresses metastasis via cooperative effects on multiple cell compartments. *Cancer Res* 2008; 68: 3835-3843 [PMID: 18483268 DOI: 10.1158/0008-5472]

47 Chen YL, Lv J, Ye XL, Sun MY, Xu Q, Liu CH, Min LH, Li HP, Liu P, Ding X. Sorafenib inhibits transforming growth factor β1-mediated epithelial-mesenchymal transition and apoptosis in mouse hepatocytes. *Hepatology* 2011; 53: 1708-1718 [PMID: 21360571 DOI: 10.1002/hep.24254]

48 Tugues S, Fernandez-Varo G, Muñoz-Luque J, Ros J, Arroyo V, Rodés J, Friedman SL, Carmeliet P, Jiménez W, Morales-Ruiz M. Antiangiogenic treatment with sunitinib ameliorates inflammatory infiltrate, fibrosis, and portal pressure in cirrhotic rats. *Hepatology* 2007; 46: 1919-1926 [PMID: 17935226 DOI: 10.1002/hep.21921]

49 Yoshiji H, Noguchi R, Kuriyama S, Ikenaka Y, Yoshii J, Yanase K, Namisaki T, Kitade M, Masaki T, Fukui H. Imatinib mesylate (STI-571) attenuates liver fibrosis development in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005; 288: G907-G913 [PMID: 15618280 DOI: 10.1152/ajpgi.00420.2004]

50 Wang Y, Gao J, Zhang D, Zhang J, Ma J, Jiang H. New insights into the antifibrotic effects of sorafenib

on hepatic stellate cells and liver fibrosis. *J Hepatol* 2010; 53: 132-144 [PMID: 20447716 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.02.027]
51 Zhou CS, Yin ZY, Zhao WX, Zhang L, You JY, Su WX, Fan J, Wang XM. Bear bile inhibits the immunosuppression activity of hepatic stellate cells in vivo. *Hepatogastroenterology* 2012; 59: 1529-1536 [PMID: 22683969 DOI: 10.5754/hge10637]

编辑 田滢 电编 闫晋利

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》出版流程

本刊讯 《世界华人消化杂志》[ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569]是一份同行评议性和开放获取(open access, OA)的旬刊, 每月8、18、28号按时出版. 具体出版流程介绍如下:

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

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

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

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

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

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

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

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

《世界华人消化杂志》从收稿到发行每一步都经过严格审查, 保证每篇文章高质量出版, 是消化病学专业人士发表学术论文首选的学术期刊之一. 为保证作者研究成果及时公布, 《世界华人消化杂志》保证每篇文章四月内完成. (《世界华人消化杂志》编辑部)

世界华人消化杂志 2013年4月8日; 21(10): 880-885
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

急性胰腺炎的评分系统

王东旭, 林连捷, 郑长青

■背景资料
急性胰腺炎(AP)为常见急腹症, 重症预后不佳, 死亡率高, 因此早期对AP患者的严重程度进行预测评估有着至关重要. 目前有多种评分系统可用于AP患者严重程度及预后的早期评价, 各评分系统具有各自的优势和特点, 应注意掌握及区别应用.

王东旭, 林连捷, 郑长青, 中国医科大学附属盛京医院消化内科 辽宁省沈阳市110022
王东旭, 硕士, 主要从事胰腺炎的相关研究.
辽宁省科学技术基金资金资助项目, No. 2010225008
辽宁省博士科研启动基金资助项目, No. 20081048
沈阳市科学技术基金资助项目, No. F10-205-1-7
作者贡献分布: 本文综述由王东旭完成; 林连捷与郑长青审校.
通讯作者: 林连捷, 副教授, 副主任医师, 110022, 辽宁省沈阳市铁西区滑翔路39号, 中国医科大学附属盛京医院消化内科.
audreylin73@hotmail.com
收稿日期: 2013-02-05 修回日期: 2013-03-04
接受日期: 2013-03-14 在线出版日期: 2013-04-08

Acute pancreatitis scoring systems

Dong-Xu Wang, Lian-Jie Lin, Chang-Qing Zheng

Dong-Xu Wang, Lian-Jie Lin, Chang-Qing Zheng, Department of Gastroenterology, Shengjing Hospital, China Medical University, Shenyang 110022, Liaoning Province, China
Supported by: the Science and Technology Project of Liaoning Province, No. 2010225008; the Doctoral Scientific Research Foundation of Liaoning Province, No. 20081048; the Science and Technology Project of Shenyang, No. F10-205-1-7
Correspondence to: Lian-Jie Lin, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Shengjing Hospital, China Medical University, 39 Huaxiang Street, Tiexi Distric, Shenyang 110022, Liaoning Province, China. audreylin73@hotmail.com
Received: 2013-02-05 Revised: 2013-03-04
Accepted: 2013-03-14 Published online: 2013-04-08

Abstract
Acute pancreatitis (AP) is a common acute abdominal disease that can be divided into mild acute pancreatitis and severe acute pancreatitis (SAP). SAP accounts for 20%-30% of all AP cases, progresses rapidly and is associated with a high mortality rate. Early identification, diagnosis and treatment of SAP are important for improving the prognosis. This article will introduce common AP scoring systems and describe the characteristics of each system.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Acute pancreatitis; Scoring systems; APACHE Ⅱ; BISAP; CTSI

Wang DX, Lin LJ, Zheng CQ. Acute pancreatitis scoring systems. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(10): 880-885
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/880.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i10.880

■同行评议者
江建新, 副主任医师, 贵阳医学院附属医院肝胆外科; 陈其奎, 教授, 中山大学附属第二医院消化内科

摘要
急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)为常见急腹症, 有轻症急性胰腺炎(mild acute pancreatitis)和重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)之分. 其中SAP占20%-30%, 进展迅速, 病死率高. 因此早期识别、诊断和治疗SAP对患者至关重要. 本文将介绍临床上常用的AP评分系统, 并对其各自的特点进行综述.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 急性胰腺炎; 评分系统; APACHE Ⅱ评分; BISAP评分; CTSI评分

核心提示: 本文对急性胰腺炎(acute pancreatitis)常用评分系统的研究进展进行总结, 有助于指导临床医生在工作中了解各评分系统的优势, 合理应用及选择评分系统.

王东旭, 林连捷, 郑长青. 急性胰腺炎的评分系统. 世界华人消化杂志 2013; 21(10): 880-885 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/880.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i10.880

0 引言
急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)为消化系常见的急腹症, 是指多种病因导致胰酶激活, 继而胰腺自身消化, 导致胰腺局部炎性反应和/或出现全身并发症, 临床上主要分为轻症急性胰腺炎(mild acute pancreatitis, MAP)和重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP). AP患者中SAP占20%-30%, SAP病情凶险, 发展迅速, 病死率达10%-30%[1]. 因此, 早期对AP患者进行严重程度的评估有着至关重要的意义, 本文现将AP的主要的评分系统进行综述, 以期指导AP的诊疗.

1 国际常用的评分系统
1.1 Ranson评分
Ranson评分系统是第一个用于

预测AP严重程度的评分系统, 由Ranson等[2]在1974年制定, 主要指标包括由入院时的5项指标(年龄、白细胞、血糖、乳酸脱氢酶和谷草转氨酶)和入院48 h内6项指标(血细胞容积下降率、尿素氮上升值、血钙值、血氧分压下降程度、剩余碱、液体隔绝量)共同组成, 满足1项者为1分, Ranson评分≥3分提示SAP. Forsmark等[3]进行了一个包含1 300例患者的Meta分析显示, Ranson评分判断AP严重程度的敏感性为75%, 特异性为77%, 阳性预测值为49%, 阴性预测值为91%. 罗建华[4]通过对200例SAP患者进行回顾性分析指出Ranson评分高低与患者发生死亡率、感染率、MODS发生率正相关, Ranson评分与患者死亡率呈线性相关. 刘岩等[5]认为Ranson评分在预测局部并发症, 禁食天数以及住院天数方面有一定的优势. Ranson评分最大的缺点[6]在于需要48 h的时间来完成评分, 错过了潜在的宝贵的治疗时间窗, 影响了其在早期评估AP患者严重程度上的应用, 且受治疗因素的影响, 一些指标不能重复应用, 影响其连续性与动态性. 但尽管如此, Ranson评分在临床工作的中的价值仍不能否认, 仍是临床中常用的评分系统之一.

1.2 Glasgow评分 Glasgow评分[7]又称Imrie标准, 由Imrie等于1978年提出, 1981年和1984年又进行了2次修改, 指标由年龄、白细胞、血糖、尿素氮、动脉氧分压、血钙、白蛋白、乳酸脱氢酶、谷丙/谷草转氨酶构成, 主要依据实验室检查, 强调了客观检验数据. Blamey等[8]对405例AP患者研究表明Glasgow评分判断SAP的敏感性为56%, 特异性为83%, 阳性预测值为57%, 阴性预测值为90%. Glasgow评分对AP预后评估与Ranson评分无显著差异, 但多用于欧洲地区, 在此不做过多叙述.

1.3 APACHE Ⅱ评分 急性生理和慢性健康状况评分(acute physiology and chronic health evaluation Ⅱ, APACHE Ⅱ). Knaus等[9]于1981年首先提出APACHE Ⅰ评分系统, 旨在加强危重患者的监测, 适用于大多数危重疾病严重程度的评价, 1985[10]年将APACHE Ⅰ评分进行修改, 得到APACHEⅡ评分, 虽后来又逐渐提出了APACHE Ⅲ评分及APACHE O评分, 但仍以APACHEⅡ评分在临床中的应用最为广泛, 且受到多项指南的推荐. APACHEⅡ评分由急性生理评分、年龄指数评分和慢性健康指数评分三者之和组成. 当APACHE Ⅱ评分≥8分时提示SAP. Dambrauskas等[11]认为其预测SAP的敏感性97%, 特异性为100%. APACHEⅡ评分在入院24 h内即可完成, 且不受治疗因素的影响, 可以连续动态观察分值的变化. Khan等[12]认为SAP患者的APACHE Ⅱ评分在入院后48 h较入院时能更好地预测胰腺坏死、器官衰竭和死亡的发生. 于刚等[13]认为入院APACHE Ⅱ评分≥8分的SAP患者若在48 h内评分增长≥2分, 则提示病情明显加重, 预后不佳. Singh等[14]认为APACHE Ⅱ评分与ICU患者的死亡率相关, APACHEⅡ评分≥12分时, 患者的死亡率>80%, 当APACHEⅡ评分<12分时, 患者的死亡率为23%. 此外, 段群欢等[15]认为入院时APACHEⅡ评分能较好地预测SAP患者深部真菌感染的发生, 尤其当APACHEⅡ评分>15分时, 高度提示发生深部真菌感染的可能, 必要时可行预防性抗真菌治疗. APACHEⅡ评分对患者治疗时机的选择也有一定的指导意义, 朱川等[16]认为早期(APACHEⅡ评分为20-29分)高容量血液滤过可明显改善SAP的预后, 当APACHE Ⅱ评分20-24分时行高容量血液滤过的疗效更佳. 总体来说, APACHE Ⅱ评分在AP的诊断、治疗、并发症、死亡率及预后等多个方面都有较为突出的指导意义, 但其对于局部并发症的预见能力相对较弱[17]. 且由于其参数数据较为复杂, 因此需要我们在临床工作中要详细地了解患者的病史及相关资料, 以免造成误差.

1.4 CTSI评分 Balthazar等[18]在1985年根据胰腺及胰周情况将AP的CT改变分为A-E 5个等级, 1990年在Balthazar分级的基础上增加了胰腺坏死程度, 形成了目前广泛使用的影像评分系统, CTSI评分. 目前公认的完善胰腺CT检查的最佳时间为AP发病后48-72 h[19], 而胰腺增强CT检查被认为是评价AP 严重程度、坏死范围、局部并发症及临床预后的金标准[20]. 张兴文等[21]认为增强CT不仅能观察胰腺轮廓和周围组织病变, 而且直接反映胰腺有无出血或坏死, 反映出血坏死的程度, 在预测胰腺坏死和外科引流及手术方面有较大优势. Leung等[22]认为CTSI≥5作为判断SAP的一个重要依据, 在评价并发症的发生率、病死率以及住院时间方面显示出更大的优越性. Simchuk等[23]认为CTSI评分与住院时间及是否手术切除坏死灶具有较好的相关性. 近年来, CTSI评分在儿童AP严重程度的评估中得到越来越多的证实与重视, Fabre等[24]对48名儿童AP的患者进行回顾性分析指出CTSI评分判断儿童AP严重程度的敏感性为80%, 特异性为86%, 受试者工作特征曲线下面积为0.898(95%

■研发前沿
BISAP评分、EPIC评分以及POP评分等为近年来提出的新的AP评分系统, 应在临床工作中进一步应用和推广, 以研究其在AP诊治中的价值. CTSI评分在儿童AP严重程度及预后评估中的价值应得到充分的重视.

■相关报道
2012年Fabre等进行的回顾性研究指出CTSI评分判断儿童AP严重程度的敏感性优于Ranson评分和Glasgow评分.

可信区间为0.73-1.00), 其灵敏度要高于Ranson评分和Glasgow评分. 无独有偶, Lautz等[25]的研究同样证实了CTSI对于儿童AP在发生严重并发症风险的识别上要优于临床评分. 因此, 要注重CTSI在儿童AP上的应用. CTSI评分存在的问题在于部分患者存在肾功能不全或对造影剂过敏的情况, 导致无法行胰腺增强CT检查, 影响CTSI评分的应用和准确性. 此外, 由于胰腺坏死不能在AP早期出现, 因此英国胃肠学协会[26]建议对SAP患者在入院后的3-10 d行动态增强CT检查, 但此举可能会加重患者的经济负担及病情.

1.5 BISAP评分 AP严重程度床边指数(bedside index for severity in acute pancreatitis, BISAP). BISAP评分是由Wu等[27]于2008年提出的新型评分标准, 由尿素氮、精神神经状态异常、系统性炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)、年龄和胸腔积液五项指标构成. Gompertz等[28]对128例AP患者进行分析指出使用BISAP评分预测AP患者发生器官衰竭的曲线下面积为0.977, 当BISAP评分≥3分时预测SAP的敏感性、特异性、阳性预测值和阴性预测值分别为71.4%、99.1%、83.3%和98.3%, 且BISAP评分与住院天数有显著的相关性, 其敏感性和特异性优于APACHE Ⅱ和CTSI评分. Singh等[29]通过研究指出BISAP≥3分预示着器官衰竭、持续性器官衰竭及胰腺坏死, 有更高的死亡风险. 但Papachristou等[30]认为, BISAP评分主要对AP病理生理过程中免疫反应所导致损伤的评估及老年患者的病情严重度的预测方面较为精确, 在预测SAP、胰腺坏死、持续性器官功能障碍以及死亡率时并没有比其他评分系统更精确, 且不易区分短暂的器官功能障碍和持续性器官功能障碍. 总之, BISAP评分作为较新型的评分标准, 指标构成简单但评估全面, 5项指标中唯一的主观指标精神神经系统异常, BISAP评分简化为只要出现定向力下降或其他精神行为异常即为阳性, 从而降低了评估者的主观偏倚. 因此, BISAP评分适用于AP的严重程度分层, 在临床中的作用也有待于进一步的研究和探索.

2 其他评分系统

2.1 JSS评分 日本严重度评分(Japanese severe score, JSS). JSS评分是由5项临床征象、10项血实验、CT表现、SIRS和年龄(≥70岁)作为临床预后的评分因素, 最高分为27, 严重程度分为5个等级(0-4级), 具体可参见相关文献[31]. 东西方人群在饮食结构、环境等多方面具有差异[32], 因此在AP的病因及病程变化上也有所差异, 刘晓颖等[33]认为由于JSS评分是在亚洲人群中指定, 故更适合亚洲人在AP严重度及预后的评估, 且通过对84例SAP患者进行JSS评分证实JSS评分在预测SAP患者的预后、MODS发生率以及手术次数方面均具有较好的优势. 但JSS评分包含了太多的评价项目, 限制了其应用, 且对患者在输氧或输血时所获得的资料进行解释较为困难[31].

2.2 EPIC评分 胰腺外炎症CT评分(extrapancreatic inflammation on CT score, EPIC). EPIC评分由De Waele等[34]于2007提出, 是一种较新的通过观察腹部CT表现(胸水、腹水、腹膜后炎症及肠系膜炎症)来评价AP早期全身炎症反应对预后的影响, De Waele等[34]通过对40例24 h内完成CT检查的AP患者的回顾性分析, 分别进行EPIC评分、Balthazar CT分级及CTSI评分, 发现当EPIC>4分时, 对SAP诊断的敏感性为100%, 特异性为70.8%. 此外, EPIC对SAP及死亡的预测ROC曲线下面积分别为0.91及0.85, 明显优于Balthazar CT分级及CTSI评分. 李峥艳等[35]对119例SAP患者的回顾性分析指出与传统的CT评分相比, EPIC评分预测SAP合并急性肾损伤的准确性优于CTSI评分及Balthazar CT分级, 并与急性肾损伤的发生具有良好的相关性. EPIC评分在AP严重程度的判断中具有较广泛的应用前景, 但仍需要更多高级别的证据和研究来证实其在临床的价值.

2.3 MEWS评分 改良早期预警评分(modified early warning score, MEWS). MEWS评分由Subbe等[36]于2001年提出, 是从患者心率、收缩压、呼吸频率、体温和意识5个方面进行评分. 王何滨[37]认为MEWS评分预测SAP的界值为7分, 特异度91.89%, 敏感度82.35%, 与APACHE Ⅱ评分具有同等预测价值, 且评分结构简单, 获取数据方便, 在其对AP严重程度的初步判断中有着重要的意义, 但MEWS的设定是基于针对急诊或入院前病人病情评估和危险分层的评分方法[36], 故其对AP的并发症及预后的判断还需要大规模的研究进一步证实.

2.4 SOFA评分 序贯器官衰竭估计评分(sequential organ failure assessment, SOFA). SOFA评分[38]由欧洲重症医学协会感染相关工作组制定, 评估SAP时肝脏、肾脏、凝血、心血管、神经及呼吸系统等器官功能状态. 任一器官功能评分≥2

分即可诊断为该器官功能障碍, 评分≥3分时可诊断该器官功能衰竭. Ho等[39]认为SOFA评分与APACHE Ⅱ联合评估, 可提高准确性. Juneja等[40]认为SOFA评分在预测AP患者的严重度及30 d内的病死率较其他评分系统更为优越. 但SOFA评分的缺陷在于其在精神方面的评分, 尤其是在患者精神状态恢复、结局有好转时, 其评分标准没有得到相应的修改[41].

2.5 Binder评分 Binder评分[42]主要从器官并发症(休克、全身感染、肺功能不全、肾功能不全、腹膜炎、出血、肠麻痹)和代谢并发症(低钙血症、凝血障碍、黄疸、高血糖、脑病、代谢性酸中毒)两个方面进行评分, 总分共29分. 金世龙等[43]认为评分>7分组的病死率显著高于评分<7分组. 曲永柏等[44]认为休克、急性呼吸窘迫综合征、胰性脑病和全身感染是SAP主要并发症和病死原因, Binder积分的高低与其有关, 积分越高, SAP的预后越差, Binder评分高低不仅可用于判定SAP病情轻重, 还可估计SAP的预后. 何家滨等[45]认为Binder并发症评分可以作为一项评价SAP手术治疗预后的良好指标.

2.6 POP评分 胰腺炎结局预测评分(pancreatitis outcome prediction, POP). POP评分[46]包含血PH、年龄、血尿素氮、平均动脉压、氧合指数和血清钙6项指标, 可用于对疾病的严重程度及全身并发症的预测, 但对局部并发症的预测效果不佳. 樊景云等[47]认为POP评分对死亡、中转手术、MODS发生的诊断阈值依次为14、8、10, POP评分可预测胰腺局部并发症以外的各项结局指标, 其对死亡的预测价值尤为突出, 当POP评分≥14分时, 其预测死亡的敏感性为0.90, 特异性为0.92.

2.7 其他 POSSUM评分系统, 主要用于判断需手术治疗的AP患者的手术病死率和并发症的发生率, 并对需再次手术病例有一定的预警作用[48]; 无害性胰腺炎评分(harmless acute pancreatitis score)有助于筛选出MAP患者, 这些患者不需入住ICU, 有助于节约医疗资源以及减少住院费用[49]; 还有简单预后评分(simple prognostic score)评分[50]及BALI评分[51]等, 因应用较少, 在此不做过多综述.

3 结论

尽管AP的评分系统多种多样, 但对于AP, 尤其是SAP来讲, 作为一个既有局部病变又有全身反应的病理生理过程, 目前仍没有哪一种评分系统可以对疾病的严重程度及预后有最佳的判断. 因此, 在临床工作中, 我们应注重充分利用各种评分系统的优势, 从不同的角度利用多种评分系统进行综合、反复的评价, 从而更好地对AP患者的病情进行科学的评估及预测, 指导患者的诊疗.

■应用要点

在临床工作中要充分利用各评分系统的优势, 针对不同的目的选用合适的评分系统进行综合、反复的评价, 以充分发挥评分系统在AP诊治中的价值.

4 参考文献

1 中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组. 中国急性胰腺炎诊治指南(草案). 中华内科杂志 2004; 43: 236-238

2 Ranson JH, Rifkind KM, Roses DF, Fink SD, Eng K, Spencer FC. Prognostic signs and the role of operative management in acute pancreatitis. *Surg Gynecol Obstet* 1974; 139: 69-81 [PMID: 4834279]

3 Forsmark CE, Baillie J. AGA Institute technical review on acute pancreatitis. *Gastroenterology* 2007; 132: 2022-2044 [PMID: 17484894 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.03.065]

4 罗建华. Ranson评分系统在重症急性胰腺炎中的应用价值. 华西医学 2008; 23: 1021-1022

5 刘岩, 路筝, 李兆申, 董元航, 张文俊, 潘雪. APACHE Ⅱ、Ranson和CT评分系统对重症急性胰腺炎预后评价的比较. 胰腺病学 2006; 6: 196-200

6 陈玉华, 古赛. 急性胰腺炎预后评分的进展. 医学综述 2012; 18: 401-404

7 Leese T, Shaw D. Comparison of three Glasgow multifactor prognostic scoring systems in acute pancreatitis. *Br J Surg* 1988; 75: 460-462 [PMID: 3390678 DOI: 10.1002/bjs.1800750519]

8 Blamey SL, Imrie CW, O'Neill J, Gilmour WH, Carter DC. Prognostic factors in acute pancreatitis. *Gut* 1984; 25: 1340-1346 [PMID: 6510766 DOI: 10.1136/gut.25.12.1340]

9 Knaus WA, Zimmerman JE, Wagner DP, Draper EA, Lawrence DE. APACHE-acute physiology and chronic health evaluation: a physiologically based classification system. *Crit Care Med* 1981; 9: 591-597 [PMID: 7261642 DOI: 10.1097/00003246-198108000-00008]

10 Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med* 1985; 13: 818-829 [PMID: 3928249 DOI: 10.1097/00003246-198510000-00009]

11 Dambrauskas Z, Gulbinas A, Pundzius J, Barauskas G. Value of the different prognostic systems and biological markers for predicting severity and progression of acute pancreatitis. *Scand J Gastroenterol* 2010; 45: 959-970 [PMID: 20367283 DOI: 10.3109/00365521003770244]

12 Khan AA, Parekh D, Cho Y, Ruiz R, Selby RR, Jabbour N, Genyk YS, Mateo R. Improved prediction of outcome in patients with severe acute pancreatitis by the APACHE II score at 48 hours after hospital admission compared with the APACHE II score at admission. Acute Physiology and Chronic Health Evaluation. *Arch Surg* 2002; 137: 1136-1140 [PMID: 12361419]

13 于刚, 徐艳玲, 王福良, 王鹏志. 急性重症胰腺炎APACHE II评分与预后. 天津医科大学学报 2006; 12: 44-46

14 Singh RK, Poddar B, Baronia AK, Azim A, Gurjar M, Singhal S, Srivastava S, Saigal S. Audit of patients with severe acute pancreatitis admitted to an intensive care unit. *Indian J Gastroenterol* 2012; 31: 243-252

■同行评价

本文回顾大量文献, 对临床上常用的AP评分系统及其特点进行综述, 基本反映了其目前的研究进展, 具有很好的临床实用价值, 尤其适用于一线临床工作者的需求, 具有较高的应用价值.

[PMID: 22932963 DOI: 10.1007/s12664-012-0205-1]
15 段群欢, 唐朝晖, 卿伯华. 入院时APACHEⅡ评分对重症急性胰腺炎发生深部真菌感染的判断价值. 中国普外基础与临床杂志 2012; 19: 197-199
16 朱川, 尹昌林, 周人杰. APACHEⅡ评分对重症急性胰腺炎患者行高容量血液滤过治疗时机选择的价值. 重庆医学 2012; 41: 2371-2374
17 邹晓平, 顾超, 刘明东, 李运红, 钱铖. 三种临床评分标准对急性胰腺炎预后的评估价值比较. 中华消化杂志 2007; 27: 32-35
18 Balthazar EJ, Robinson DL, Megibow AJ, Ranson JH. Acute pancreatitis: value of CT in establishing prognosis. *Radiology* 1990; 174: 331-336 [PMID: 2296641]
19 Spitzer AL, Thoeni RF, Barcia AM, Schell MT, Harris HW. Early nonenhanced abdominal computed tomography can predict mortality in severe acute pancreatitis. *J Gastrointest Surg* 2005; 9: 928-933 [PMID: 16137586]
20 Working Party of the British Society of Gastroenterology; Association of Surgeons of Great Britain and Ireland; Pancreatic Society of Great Britain and Ireland; Association of Upper GI Surgeons of Great Britain and Ireland. UK guidelines for the management of acute pancreatitis. *Gut* 2005; 54 Suppl 3: iii1-iii9 [PMID: 15831893]
21 张兴文, 王湘英, 李想. APACHEⅡ、CTSI评分系统对重症急性胰腺炎诊治及预后评估的应用价值. 医学临床研究 2008; 25: 654-656
22 Leung TK, Lee CM, Lin SY, Chen HC, Wang HJ, Shen LK, Chen YY. Balthazar computed tomography severity index is superior to Ranson criteria and APACHE II scoring system in predicting acute pancreatitis outcome. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 6049-6052 [PMID: 16273623]
23 Simchuk EJ, Traverso LW, Nukui Y, Kozarek RA. Computed tomography severity index is a predictor of outcomes for severe pancreatitis. *Am J Surg* 2000; 179: 352-355 [PMID: 10930478]
24 Fabre A, Petit P, Gaudart J, Mas E, Vial J, Olives JP, Sarles J. Severity scores in children with acute pancreatitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012; 55: 266-267 [PMID: 22437470 DOI: 10.1097/MPG.0b013e318254c1c7]
25 Lautz TB, Turkel G, Radhakrishnan J, Wyers M, Chin AC. Utility of the computed tomography severity index (Balthazar score) in children with acute pancreatitis. *J Pediatr Surg* 2012; 47: 1185-1191 [PMID: 22703791 DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2012.03.023]
26 Gurusamy KS, Farouk M, Tweedie JH. UK guidelines for management of acute pancreatitis: is it time to change? *Gut* 2005; 54: 1344-1345 [PMID: 16099804]
27 Wu BU, Johannes RS, Sun X, Tabak Y, Conwell DL, Banks PA. The early prediction of mortality in acute pancreatitis: a large population-based study. *Gut* 2008; 57: 1698-1703 [PMID: 18519429 DOI: 10.1136/gut.2008.152702]
28 Gompertz M, Fernández L, Lara I, Miranda JP, Mancilla C, Berger Z. [Bedside index for severity in acute pancreatitis (BISAP) score as predictor of clinical outcome in acute pancreatitis: retrospective review of 128 patients]. *Rev Med Chil* 2012; 140: 977-983 [PMID: 23282769 DOI: 10.1590/S0034-98872012000800002]
29 Singh VK, Wu BU, Bollen TL, Repas K, Maurer R, Johannes RS, Mortele KJ, Conwell DL, Banks PA. A prospective evaluation of the bedside index for severity in acute pancreatitis score in assessing mortality and intermediate markers of severity in acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 966-971 [PMID: 19293787 DOI: 10.1038/ajg.2009.28]
30 Papachristou GI, Muddana V, Yadav D, O'Connell M, Sanders MK, Slivka A, Whitcomb DC. Comparison of BISAP, Ranson's, APACHE-II, and CTSI scores in predicting organ failure, complications, and mortality in acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 435-441; quiz 442 [PMID: 19861954 DOI: 10.1038/ajg.2009.622]
31 Hirota M, Takada T, Kawarada Y, Hirata K, Mayumi T, Yoshida M, Sekimoto M, Kimura Y, Takeda K, Isaji S, Koizumi M, Otsuki M, Matsuno S. JPN Guidelines for the management of acute pancreatitis: severity assessment of acute pancreatitis. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2006; 13: 33-41 [PMID: 16463209 DOI: 10.1007/s00534-005-1049-1]
32 Teelucksingh S, Naraynsingh V, Hariharan S, Dan D, Harnarayan P, Budhooram S. Acute pancreatitis due to hypertriglyceridemia--a case series of West Indians of Asian Indian ancestry. *Indian J Gastroenterol* 2009; 28: 117-118 [PMID: 19907966 DOI: 10.1007/s12664 -009-0042-z]
33 刘晓颖, 陈尔真. 新日本严重度评分评估重症急性胰腺炎严重度及风险的价值. 上海交通大学学报(医学版) 2012; 32: 344-347
34 De Waele JJ, Delrue L, Hoste EA, De Vos M, Duyck P, Colardyn FA. Extrapancreatic inflammation on abdominal computed tomography as an early predictor of disease severity in acute pancreatitis: evaluation of a new scoring system. *Pancreas* 2007; 34: 185-190 [PMID: 17312456]
35 李峥艳, 张凌, 金涛, 黄子星, 宋彬, 吴苾, 张薇薇, 钟欢欢, 刘曦娇, 刘丹. CT评分与重症急性胰腺炎合并急性肾损伤的相关性分析. 四川大学学报(医学版) 2011; 42: 695-698
36 Subbe CP, Kruger M, Rutherford P, Gemmel L. Validation of a modified Early Warning Score in medical admissions. *QJM* 2001; 94: 521-526 [PMID: 11588210]
37 王何滨. MEWS评分与APACHEⅡ评分在重症胰腺炎患者预后预测中的对比研究. 现代预防医学 2011; 38: 5137-5138
38 Vincent JL, Moreno R, Takala J, Willatts S, De Mendonça A, Bruining H, Reinhart CK, Suter PM, Thijs LG. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med* 1996; 22: 707-710 [PMID: 8844239]
39 Ho KM. Combining sequential organ failure assessment (SOFA) score with acute physiology and chronic health evaluation (APACHE) II score to predict hospital mortality of critically ill patients. *Anaesth Intensive Care* 2007; 35: 515-521 [PMID: 18020069]
40 Juneja D, Gopal PB, Ravula M. Scoring systems in acute pancreatitis: which one to use in intensive care units? *J Crit Care* 2010; 25: 358.e9-358.e15 [PMID: 20149591 DOI: 10.1016/j.]
41 Tallgren M, Bäcklund M, Hynninen M. Accuracy of Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) scoring in clinical practice. *Acta Anaesthesiol Scand* 2009; 53: 39-45 [PMID: 19032556 DOI: 10.1111/

j.1399-6576.2008.01825.x]
42 Binder M, Uhl W, Friess H, Malfertheiner P, Büchler MW. Octreotide in the treatment of acute pancreatitis: results of a unicenter prospective trial with three different octreotide dosages. *Digestion* 1994; 55 Suppl 1: 20-23 [PMID: 8132134 DOI: 10.1159/000201184]
43 金世龙, 顾红光, 王仁云, 廖维健. 急性重症胰腺炎Binder综合评分及其预后. 中华肝胆外科杂志 2003; 9: 355-357
44 曲永柏, 卢华军, 隋武, 陈敏胜. 急性重症胰腺炎预后与Binder综合评分的关系. 实用医药杂志 2006; 23: 641-643
45 何家滨, 江展庆, 张帅. 手术治疗重症急性胰腺炎的预后影响因素分析. 海南医学 2012; 23: 73-76
46 Harrison DA, D'Amico G, Singer M. The Pancreatitis Outcome Prediction (POP) Score: a new prognostic index for patients with severe acute pancreatitis. *Crit Care Med* 2007; 35: 1703-1708 [PMID: 17522578 DOI: 10.1097/01.CCM.0000269031.13283.C8]
47 樊景云, 黄宗文, 郭佳. 4项评分系统对重症急性胰腺炎预后评估的受试者工作特征曲线分析. 中西医结合学报 2009; 7: 34-40
48 朱岭, 全卓勇, 彭开勤, 张应天. 动态APACHEⅡ评分和POSSUM评分在重症急性胰腺炎治疗中的联合应用. 中国实用外科杂志 2004; 24: 113-115
49 李新, 钟碧慧, 晁康, 陈旻湖. 急性胰腺炎严重程度预测方法新进展. 中华胰腺病杂志 2011; 11: 375-377
50 Ueda T, Takeyama Y, Yasuda T, Matsumura N, Sawa H, Nakajima T, Ajiki T, Fujino Y, Suzuki Y, Kuroda Y. Simple scoring system for the prediction of the prognosis of severe acute pancreatitis. *Surgery* 2007; 141: 51-58 [PMID: 17188167 DOI: 10.1016/j.surg.2006.05.008]
51 Spitzer AL, Barcia AM, Schell MT, Barber A, Norman J, Grendell J, Harris HW. Applying Ockham's razor to pancreatitis prognostication: a four-variable predictive model. *Ann Surg* 2006; 243: 380-388 [PMID: 16495704 DOI: 10.1097/01.sla.0000202213.22389.36]

编辑 田滢 电编 闫晋利

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版)

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

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

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2013年4月8日; 21(10): 886-893
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

从“肺与大肠相表里”理论谈COPD和IBD病理过程的肺肠串扰

刘 元, 王新月

■背景资料
中医学认为肺与肠具有生理上和病理上的密切相关性, 在肺与肠的疾病治疗中, 常常借助这种相关性而取得出人意料的临床疗效.

刘元, 王新月, 北京中医药大学东直门医院消化科 北京市 100700
刘元, 博士后, 主要从事炎症性肠病的研究.
国家重点基础研究发展计划“973计划”基金资助项目, No. 2009CB522705
中国博士后科学基金资助项目, No. 2012M510370
作者贡献分布: 本综述由刘元完成; 王新月负责审校.
通讯作者: 王新月, 教授, 主任医师, 100700, 北京市东城区海运仓5号, 北京中医药大学东直门医院消化科. wxy6687@sina.com
收稿日期: 2012-10-15 修回日期: 2013-02-16
接受日期: 2013-03-14 在线出版日期: 2013-04-08

Pulmonary-intestinal crosstalk in the pathological process of COPD and IBD: A perspective from the lung and the large intestine being interior-exteriorly related theory

Yuan Liu, Xin-Yue Wang

Yuan Liu, Xin-Yue Wang, Department of Gastroenterology, Dongzhimen Hospital Affiliated to Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700, China
Supported by: the National Key Basic Research Development Program ("973 Program"), No. 2009CB522705; the China Postdoctoral Science Foundation, No. 2012M510370
Correspondence to: Xin-Yue Wang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Dongzhimen Hospital Affiliated to Beijing University of Chinese Medicine, 5 Haiyuncang, Dongcheng District, Beijing 100700, China. wxy6687@sina.com
Received: 2012-10-15 **Revised:** 2013-02-16
Accepted: 2013-03-14 **Published online:** 2013-04-08

Abstract
Traditional Chinese medicine theory believes that the lung and intestine are closely related physiologically and pathologically. With the help of this, unexpected clinical efficacy can be achieved in the treatment of lung and intestinal diseases. Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and inflammatory bowel disease (IBD) are chronic inflammatory diseases of mucosal tissues that affect the respiratory and gastrointestinal tracts, respectively. Both COPD and IBD are driven by recurrent cycles of inflammation that lead to tissue damage and remodeling and progressively worsen symptoms. There have been no cures for either disease and both require lifelong health maintenance. Exploration of the correlation in the pathological process between COPD and IBD will help us find new ways of treatment of these two diseases.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Chronic obstructive pulmonary disease; Inflammatory bowel disease; Pulmonary-intestinal crosstalk; Inflammation

Liu Y, Wang XY. Pulmonary-intestinal crosstalk in the pathological process of COPD and IBD: A perspective from the lung and the large intestine being interior-exteriorly related theory. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(10): 886-893 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/886.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i10.886

摘要
中医学认为肺与肠具有生理上和病理上的密切相关性, 在肺与肠的疾病治疗中, 常常借助这种相关性而取得出人意料的临床疗效. 慢性阻塞性肺病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)和炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是分别影响呼吸道和胃肠道黏膜组织的慢性炎症性疾病. 由于呼吸道和胃肠道系统的共同生理特性决定了慢性COPD和IBD在病理特征上有许多相似性, 表现为炎症的反复发作致组织损伤和重构, 使症状逐渐加重. 这两种疾病均无治愈方法并需要终身健康维护, 目前的治疗方法不是最理想的. 因此, 探讨慢性COPD和IBD病理过程的相关性研究有助于我们寻找这两类疾病的治疗的新途径.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 慢性阻塞性肺病; 炎症性肠病; 肺肠串扰; 炎症反应

核心提示: 本文从“肺与大肠相表里”的中医理论基础、西医理论基础、慢性阻塞性肺病(chronic obstructive pulmonary disease)和炎症性肠病

■同行评议者
范恒, 教授, 主任医师, 华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科; 王蒙, 副教授, 中国人民解放军第二军医大学附属东方肝胆外科医院肝外综合治疗一科

(inflammatory bowel disease)病理串扰的机制分析等方面深入分析了“肺肠串扰”的中医、西医理论基础, 探讨了“肺肠串扰”的分子机制, 揭示了“肺与大肠相表里”的科学性, 对基础医学脏器关系的研究有新的提示.

刘元, 王新月. 从“肺与大肠相表里”理论谈COPD和IBD病理过程的肺肠串扰. 世界华人消化杂志 2013; 21(10): 886-893
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/886.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i10.886

■研发前沿
本文通过提出“肺肠串扰”的概念, 并对其分子机制进行深入的探讨, 对肺与肠的难治性疾病提供新的治疗途径, 也为临床复杂疾病特别是多系统损害病理转变提供了一个新的治疗思路.

0 引言

中医学认为肺与大肠之间的表里关系, 在肺与肠生理、病理等多方面相互影响, 互为补充, 形成了一种密不可分的依赖关系. 当前该理论一直有效地指导着临床实践, 在肺与肠的疾病治疗中, 常常借助这种相关性而取得出人意料的临床疗效. 慢性阻塞性肺病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)和炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是分别影响呼吸道和胃肠道黏膜组织的慢性炎症性疾病. 由于呼吸道和胃肠道系统的共同生理特性决定了COPD和IBD在病理特征上有许多相似性, 表现为炎症的反复发作致组织损伤和重构, 使症状逐渐加重. 这两种疾病均无治愈方法并需要终身健康维护, 目前的治疗方法不是最理想的. 因此, 探讨COPD和IBD病理过程的相关性研究有助于我们寻找这两类疾病治疗的新途径.

1 “肺与大肠相表里”的中医理论基础

中医学说认为, 人体是一整体, 皮肤、经络、脏腑、骨髓等存在着连接内外, 表里沟通的关系, 诊疗疾病中的“有诸内必形于外”即是这一思想的重要应用. 《灵枢·本输》曰: “肺合大肠”, 也就是后世的“肺与大肠相表里”, 意指肺与大肠相互关联, 相互影响, 从而维持人体正常生命和功能活动. 肺居于人体上焦, 为五脏六腑之华盖, 主宣发肃降; 大肠传导之官, 变化出焉, 其生理功能为传化糟粕、主津. 肺与大肠通过经脉的络属而构成表里相合关系. 生理上大肠以通为用, 肺气以降为和, 两者通降相互联系, 互为因果. 肺之肃降有助于大肠的传导, 大肠传导功能正常, 有助于肺气肃降. 《医经精义·脏腑之官》曰: “大肠之所以能传导者, 以其为肺之腑. 肺气下达, 故能传导”. 病理上, 两者相互影响, 即肺病及肠, 肠病亦可及肺. 如《灵枢·四时气》曰: “腹中常鸣, 气上冲胸, 喘不能久立, 邪在大肠.”

中医学主要从功能角度认识人体, 其所说的脏腑主要指人体共同完成某类功能的器官或组织的集合体. 从当前的研究看, “肺”的定位主要与呼吸系统相关, “大肠”的定位主要与整个胃肠道相关. 只有明确了隶属中医概念的肺与大肠的定位, 下一步的研究才更有针对性和一致性.

2 “肺与大肠相表里”的西医理论基础

一段时期以来, 国内不少学者在“肺与大肠相表里”理论指导下, 广泛开展了肺与大肠常见病的临床疗效观察研究, 如COPD和IBD, 对肺与大肠的难治性疾病通过辨证, 采用肺病治肠、肠病治肺或肺肠同治的中医治疗取得了满意的疗效, 证实了该理论在临床上具有重要的实用价值[1-4]. 国外医学界也认识到呼吸系统与消化系统之间的相关性, 为此开展了广泛而深入的研究[5].

2.1 呼吸道和胃肠道具有共同的生理特性

呼吸道和胃肠道有许多组织结构上的相似性. 二者均有广泛的高度血管化的管腔表面积, 由选择性上皮屏障和覆盖其上的黏液层保护, 免于共生菌、病原体和外来抗原的侵袭. 这些上皮细胞表面覆盖了一层疏松结缔组织和黏膜相关淋巴组织构成的黏膜下层, 由常驻淋巴细胞组成. 这些淋巴组织调控抗原提呈、淋巴细胞转运和黏膜宿主防御. 呼吸道和胃肠道的上皮由原肠内胚层分化而成[6,7], 可能是二者在生理上相似的原因. 然而最有可能的是, 这些器官相似的炎症和免疫成分是造成呼吸系统和肠道黏膜疾病病理变化相似的原因.

2.2 COPD和IBD在致病因素上的相近性

COPD和IBD均是多因素疾病, 二者之间受很多共同危险因素影响, 如环境、遗传和微生物等. 此外, 这两种疾病在病理学上均表现出明确的免疫功能障碍.

COPD是以持续存在的气流受限和肺容积功能丧失为特征的一系列疾病的总称. 患者患有慢性支气管炎和肺气肿, 导致呼吸困难. 烟草烟雾等有害气体或颗粒的吸入造成了慢性炎症反应, 细菌或病毒感染引发的病情周期性恶化导致了这些症状的发生. 在西方国家, 吸烟是COPD发生的主要危险因素, 但是在其他国家或地区有害烟雾、空气污染和某些遗传因素也可增加COPD发病的危险性[8]. 近来研究表明, 儿童

■相关报道
近年来国内不少学者从肺肠相关角度开展了肺与大肠常见病的临床疗效观察, 对肺与大肠的难治性疾病通过辨证, 采用肺病治肠、肠病治肺或肺肠同治的中医治疗, 取得了满意的疗效.

期严重的呼吸道感染也会导致COPD的发生[9,10]. 下呼吸道的菌落已被认为是COPD发病机制之一, 这与传统理解有所出入, 传统研究主要基于对健康肺的无菌环境的细胞培养, 对独立的细胞培养技术的微生物分析的进展表明健康肺是其自身微生物菌群的宿主, 但疾病时会发生显著变化[11,12]. 然而, 肺微生物菌群在COPD发病机制中的具体作用和感染导致的COPD恶化的具体机制却知之甚少.

IBD是一系列胃肠道炎症性疾病的总称, 溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD)是IBD最常见的两种形式, 均表现为每天过度排便、剧烈腹痛、腹泻、消瘦、营养不良和肠出血. 从生理上来说, UC和CD是截然不同的. UC是发生在结肠部位的连续浅表性溃疡, CD则是发生在消化道任何部位的透壁性散发病变. 肠道微生物菌群的变化与IBD的发病也存在一定的关系[13,14]. 微生物菌群失调导致了IBD的发生, 而慢性炎症又导致了微生物菌群多样性的丢失, 使疾病反复发作. 在COPD和IBD中肺与肠微生物的优势菌群发生了变化并使多样性减少, 但微生物数量并没有减少. 这些变化是炎症发生的原因还是结果尚不清楚, 但一个健康的微生物菌群在维持呼吸道和胃肠道健康方面起着重要作用. 借助粪便细菌疗法, 将一个已恢复健康的患者的微生物菌群移植到一个绞痛患者身上, 作为对UC的治疗方法已经在个案研究中显示出希望, 这表明微生物的构成在肠道炎症上发挥了重要作用, 健康微生物菌群的恢复可以促进病情的缓解[15,16].

2.3 上皮屏障功能障碍成为COPD和IBD的共有病理表现 上皮屏障功能正常是维持呼吸道和胃肠道黏膜健康状态的关键, 这是因为上皮屏障分隔了间质组织和黏膜腔中的抗原物质. 黏膜炎症的结果是屏障功能的丧失, 进而导致这些疾病转变为慢性. COPD患者易患支气管炎, 吸烟导致呼吸道上皮屏障损伤. Shaykhiev等[17]发现吸烟导致编码紧密连接蛋白和黏附蛋白的基因下调, 这在吸烟的COPD患者中尤为明显. 香烟提取物对支气管上皮细胞原代培养的体外实验表明内源性钙蛋白酶介导了紧密连接复合物的降解. IBD患者上皮通透性增加促进了慢性炎症的发生. Söderholm等[18]发现IBD患者的非炎症肠组织的上皮紧密连接更易被管腔抗原刺激破坏. 上皮的破坏导致细菌入侵感染, 经肠道微生物刺激患者体内产生较高浓度的IgG, 组织病理学结果显示紧密连接完整性的丧失. 以上研究提示上皮功能障碍是COPD和IBD的共有病理表现.

2.4 COPD和IBD炎性串扰病理学现象 在COPD和IBD上继发性器官疾病的发生已被广泛认可, 越来越多的临床资料开始关注COPD的肠道表现和IBD的肺部炎症的发生率. 在流行病学方面, COPD和CD的发病率有很强的关联性, Ekbom等[19]以人群为基础做了群组研究, 结果发现COPD患者罹患CD的风险是健康对照组的2.72倍; 家族因素也是危险因素之一, 如COPD患者一级血亲罹患CD的风险明显增加, 可能与共同居住环境有关. COPD是CD患者死亡的一个重要因素, 可使CD人群的死亡率提高2.5-3.5倍. Kuzela等[20]证明CD和UC患者肺功能异常的发病率很高. Tzanakis等[21]也发现类似的结果, 并建议IBD患者进行包括体检、胸片和肺功能测试在内的肺评估. Black等[22]进行了文献调研, 确定了55篇文章列有IBD患者出现胸腔疾病, 其中大气道病变占39%. 随机抽取的3项研究发现IBD患者肺受累的发病率分别为44%[23]、48%[24]和50%[25], 表现为间质性肺疾病、肺泡淋巴细胞数量增加、肺弥散能力降低. 因此, 在炎症性疾病中, 呼吸道和胃肠道之间确实存在一定的关系, 这已在临床治疗中被验证, 但对所涉及的炎症串扰机制尚缺乏基础方面的研究.

3 COPD和IBD病理串扰的机制与分析

虽然呼吸道和胃肠道具有共同的生理特性, COPD和IBD具有共同的致病因素 以及COPD和IBD发病过程中炎性串扰病理学现象的发生, 但是尚缺乏任何机制来解释肺肠器官之间的串扰. 而参与串扰的途径是多方面的, 如呼吸道和胃肠道黏膜均属于公共黏膜免疫系统的一部分, 可能参与肺肠之间的串扰(图1).

3.1 模式识别受体介导共性炎症反应 模式识别受体是一类高度保守的由先天免疫细胞表达的蛋白质家族, 可以识别病原相关分子模式, 如微生物、细胞刺激信号和受损组织. 他们可能是膜或胞浆结合受体, 当被激活时产生和分泌炎症介质和信号分子. 其中, 胞浆内NOD样受体家族和细胞膜上的Toll样受体家族在黏膜炎症反应中发挥了重要作用[26].

COPD患者肺部感染的风险增加, 具体机制不清. Kinose等[27]最近发现COPD患者核苷酸结合寡聚化结构2(nucleotide-binding oligomeriza-

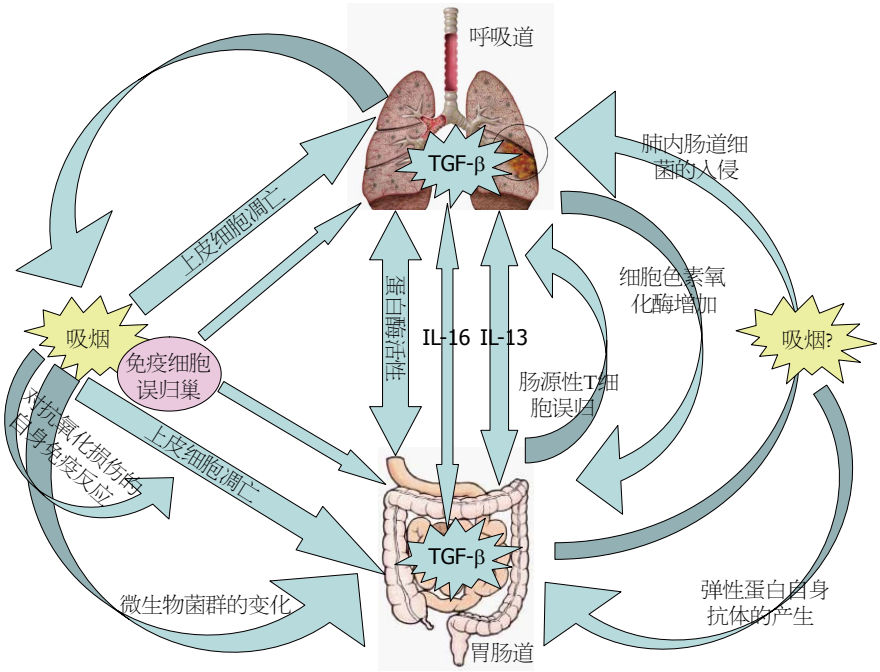


图 1 肺肠炎性串扰病理学现象的机制. IL: 白介素; TGF-β: 转化生长因子-β.

■**创新盘点**
本文针对COPD和IBD在病理过程的相关性提出“肺肠串扰”的概念, 并提出肺肠器官之间病理串扰的可能机制, 具有重要的临床指导意义.

tion domain containing 2, NOD2) rs1077861单核苷酸多态性(single-nucleotide polymorphism, SNP)可使患病率增加. NOD2识别胞壁酰二肽, 他是细菌胞壁的重要组成成分, SNP可致NOD2构象变化, 引起一系列下游反应, 导致核因子κB活化和炎症反应扩大. NOD2与CD也有密切关系. NOD2信号缺陷导致上皮屏障功能受损, 白介素(interleukin, IL)-1β增加, TLR2过度代偿, 血清IL-12增加[28,29]. 15%的CD患者出现NOD2突变. 虽然Kinose并没有检查COPD的TLR2或IL-12, 但IL-12在COPD患者和小鼠模型上已被证明与$CD8^+$ T细胞毒性增加和自然杀伤细胞(natural killer cell, NKC)活化相关, 这是否与NOD2基因多态性有关需要进一步调查. 因此, NOD2可能是COPD和CD之间的共同连接点.

TLRs可识别病毒和细菌的蛋白质并维持黏膜的动态平衡, COPD和IBD患者存在TLRs的基因变异. 感染是COPD发病的主要原因, COPD患者TLRs降低了肺泡巨噬细胞对脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)的表达和反应[30], 这表明COPD患者黏膜内源性反应是有缺陷的. COPD患者与健康对照组相比TLR2上调外周血单核细胞, 表明这些患者有全身炎症. TLR4能识别LPS, 促进COPD发病. TLR2和TLR4在小儿IBD患者的结肠黏膜表达. Cantó等[31]确定外周血单核细胞TLR2表达增加, 这与活动期的UC和CD中肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)浓度增高相关, 这表明全身炎症反应可能参与IBD发病. TLR4的D299G和T399I SNPs已被证明与UC和CD相关[32], 而T399I也已确定在COPD患者上表达, 这可能是COPD和IBD的共同连接点. 炎性细胞因子信号使TLR4在UC和CD患者肠上皮和固有层的巨噬细胞上的表达增加, 对LPS的反应增加. 因此, TLR4可能在黏膜炎性疾病上发挥了一个共同作用, 如炎性入侵和TLR4基因变异可导致肺和肠的过度免疫反应.

3.2 免疫细胞归巢的黏膜免疫细胞迁移 COPD和IBD均属于全身炎症性疾病, 外周血淋巴细胞活性可以诱导发病. 呼吸道和胃肠道黏膜都是公共黏膜免疫系统的一部分, 当一处黏膜发生炎症反应时, 可以通过黏膜免疫归巢迁移的途径影响传变到另一处. 肠道相关淋巴组织与支气管相关淋巴组织和其他部位黏膜的淋巴组织一起, 形成一个相对独立的免疫应答网络, 共同调节人体黏膜的免疫应答. 现代研究发现, 肺与大肠之所以相互联系, 主要通过黏膜免疫细胞的迁移而使消化道和呼吸道黏膜相互联系而实现的, 这使肺与大肠通过免疫途径生理上相互联系, 病理上彼此传变[33].

在健康状态下, 淋巴细胞通过循环系统不断迁移, 进入和退出抗原暴露的组织. 为了控制淋巴细胞转运至组织, 这些细胞表达特有的归巢受体, 在免疫反应过程中, 通过归巢分子与特异性受体-配体的结合, 淋巴细胞将返回其来源组

■应用要点
本文探讨COPD和IBD病理过程的相关性, 有助于寻找这两类疾病治疗的新途径.

织. 虽然在COPD体内循环的淋巴细胞的亚型和表型还没有被阐明, 但是有证据表明外周淋巴细胞功能异常可能导致COPD患者肺外疾病的发生. Sauleda等[34]发现外周血淋巴细胞的细胞色素氧化酶(cytochrome oxidase, CytOx)活性的增加与COPD的发病相关. 有趣的是, 在其他慢性炎性疾病中也观察到外周血中淋巴细胞的氧化反应增强, 如哮喘和风湿性关节炎.

对于IBD患者来说, 淋巴细胞-内皮细胞之间相互作用的选择性丧失. Salmi等[35]发现IBD患者肠道淋巴细胞归巢受体的表达并没有显示出组织特异性, 这种非特异归巢可能是IBD肠外疾病形成的原因. 据了解, 肠源性淋巴细胞具有结合滑膜和肝组织的能力, 这可以解释在IBD发病时这些器官也发生病变. IBD患者的支气管肺泡灌洗结果显示淋巴细胞数量增加, 痰的分析表明65%患者$CD4^+/CD8^+$ T细胞在肺组织中的比值增加[36], 这是否例证了淋巴细胞误归巢参与了IBD的肺表现需要被进一步确认. 最近的研究发现, UC患者人类原肌球蛋白亚型(human tropomyosin, hTM1-5)能够诱导自身抗体和T细胞反应[37], 解释了在炎性疾病中器官之间串扰的可能原因.

3.3 COPD和IBD的共性炎症通路 TNF-α与COPD并发症的发生密切相关, 也是CD病程进展的关键. TNF△ARE小鼠模型是一种过表达TNF-α的转基因小鼠模型, 表现为同时发生的克罗恩样回肠炎和近结肠炎[38]. 在此模型上已观察到眼和关节的受累, 但并没有累及到呼吸系统. 因此, 作为IBD并发症的肺表现, 呼吸道的累及可能需要亚临床、病理组织学和肺功能的进一步检测.

IL-6在炎症的急性期发挥了重要作用, 与COPD和IBD的发病相关. 肺气肿患者IL-6表达水平在整体上提高, 可与作为T辅助细胞的Th17亚群产生的转化生长因子β(transforming growth factor-β, TGF-β)结合[39]. Th17细胞是T细胞亚群的效应子, 可分泌IL-17A、IL-17F、IL-21、IL-22、IL-26、TNF-α, 促进中性粒细胞趋化. 最近的工作已经确定COPD患者外周血Th17细胞增加. IL-6和Th17细胞也与CD和UC相关. 在IBD患者的炎症及非炎症黏膜和血液中发现与IL-6和Th17相关的细胞因子有高水平表达, 在动物模型上阻断IL-6通路有一定的治疗作用. 事实上IL-6在IBD患者非炎症肠黏膜的升高但未造成组织损伤, 这提示可能是继发组织侵袭. 由于TGF-β调节黏膜组织重构并与COPD和IBD密切相关, 可以想象的是全身IL-6的增加, 加上黏膜表面的TGF-β产生, 可能诱导继发器官T细胞向Th17细胞分化而发生炎症反应.

IL-13可能促进COPD的发展, 其启动子的基因突变可能促进这一疾病的发生. T细胞受体-NK细胞或DCs被呼吸道的细菌或病毒感染所活化, 分泌IL-13激活巨噬细胞, 反过来又导致IL-13的产生, 使信号转导和转录激活因子(signal-transducer and activator of transcription, STAT)6依赖的杯状细胞增生、平滑肌过度反应及气道重构. IL-13也参与了UC的发病, 微生物刺激了异常免疫反应, 导致肠上皮NK细胞的直接细胞不良反应, 分泌IL-13导致上皮屏障功能障碍, 增强了NK细胞的细胞不良反应. STAT6介导了上皮细胞IL-13的作用, 对COPD和UC来说STAT6通路是潜在的治疗靶点[40]. 此通路是否在COPD和IBD的作用是全身性的尚不可知, 但在COPD上血清IL-13含量增加, 可能驱动了NK细胞不良反应和巨噬细胞对各器官的异常反应.

4 COPD和IBD病理串扰的遗传因素分析

4.1 COPD和IBD的已知遗传危险因素 目前为止, COPD已被确定有4个遗传危险因素. α1-抗胰蛋白酶(α1 anti-trypsin, A1AT)是一种血清胰蛋白酶抑制剂, 可以保护呼吸道免于被蛋白酶重构, 他的缺乏解释了2%的COPD患病的原因[41]. α-烟碱乙酰胆碱受体(α-nicotinic acetylcholine receptor, CHRNA3/5)[42], 音猬因子相互作用蛋白(hedgehog-interacting protein, HHIP)[43]和铁调节蛋白-2(iron-regulatory protein 2, IREB2)[44]基因已被证明是COPD潜在的易感基因位点. IBD亦有已知的遗传危险因素. NOD2[29]、自噬相关蛋白16-1(autophagy-related protein 16-1, ATG16L1)[45]、白介素23受体(interleukin-23 receptor, IL23R)[46]和免疫相关的鸟嘌呤核苷-5'-三磷酸酯酶家族M蛋白[47]的基因突变大大提高了CD的患病风险. 最近的一项研究也发现COPD患者的NOD2突变, 这可能是COPD和CD之间的关联点. 编码蛋白质的这些基因控制了肠黏膜感染和自噬, 细菌清除缺陷可能是触发CD发病的关键之一. 人类白细胞抗原类基因多态性也与UC密切相关, 表明淋巴细胞的调节是UC发病的重要因素之一. 近来遗传与UC关系的研究已取得实质性进展, 已确定新的易感基因位点有层粘连蛋白亚基β-1[48]、细胞外基质蛋白1(ex-

tracellular matrix protein 1, ECM1)[49]、肝细胞核因子4-α[48]、钙黏着蛋白-1(cadherin-1, CDH1)和CDH3[48]. 这些基因参与并维持上皮屏障的完整性, 表明上皮屏障功能障碍易患UC.

这些遗传危险因素也可能是COPD和IBD发生关联的原因. 如HHIP参与肠隐窝轴的发育, 因此需要确定该基因是否参与了COPD和IBD的共同发病. COPD和IBD的基因易感位点的多样性表明这些疾病的易感性可能涉及多个基因或等位基因, 在环境因素的诱导下导致了一些个体疾病的发生.

4.2 蛋白酶调控 蛋白酶活性的失调可能在COPD和IBD发病中发挥了作用. 在COPD患者和动物模型上已被证明升高的蛋白酶水平可破坏结缔组织成分, 尤其是基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)家族可降解胶原蛋白、弹性蛋白、纤维连接蛋白、明胶等维持黏膜结构完整性的重要成分. 上皮细胞和白细胞上MMP-2、MMP-9和MMP-12高水平表达与COPD和IBD的发病相关, 导致“失控重构”的发生. A1AT在COPD上的作用已被确定, 但其参与IBD的发病有待进一步确定. A1AT中和蛋白酶, 如中性粒细胞弹性蛋白酶和MMP-12, 并参与组织重构[50]. 在黏膜炎症期间, A1AT产生不足, 在组织重构过程未被遏制的情况下导致广泛组织损伤. A1AT的缺乏导致肺气肿和COPD病情发展. 由于其在发炎组织重构中的作用, 粪便A1AT水平作为CD患者疾病严重程度的指标之一. 虽然一些研究表明UC患者体内高表达A1AT, 但是与A1AT缺陷相关的等位基因的高患病率以及带有这种等位基因的UC患者结肠炎发展为更严重的形式, 这需要进一步工作来解决分歧.

5 结论

COPD和IBD患者的器官外炎症反应被这两种疾病复杂病因所混淆, 他们均受环境刺激产生相似的免疫和病理反应. “肺与大肠相表里”是中医学脏腑相关理论的重要内容之一, 近年来国内不少学者从肺肠相关角度开展了肺与大肠常见病的临床疗效观察, 对肺与大肠的难治性疾病通过辨证, 采用肺病治肠、肠病治肺或肺肠同治的中医治疗, 取得了满意的疗效, 一方面证实了该理论在临床上具有重要的实用价值, 验证了“肺与大肠相表里”的科学性; 另一方面提示我们属于不同系统的相同胚层来源的脏器组织具有在病理上的相互感应, 这种关系具有相对特异性, 不仅给了基础医学脏器关系的研究新的提示, 也为临床复杂疾病特别是多系统损害病理转变提供了一个新的治疗思路.

■名词解释
COPD: 以持续存在的气流受限和肺容积功能丧失为特征的一系列疾病的总称.

6 参考文献

1 李宇航, 钟相根, 贾旭, 孙燕, 郑丰杰, 王蔚, 周晓卫, 祝小惠, 田彦, 刘晓辉. “通利大肠”对慢性阻塞性肺疾病模型大鼠氧化应激的影响. 中华中医药杂志 2010; 25: 1196-1198
2 杨雪, 王新月, 朱立, 景姗, 周波, 杨舒. 从肺论治法对溃疡性结肠炎大鼠结肠组织VIP水平的影响及意义. 中国中医基础医学杂志 2011; 17: 282-283
3 王新月, 孙慧怡. 基于肺与大肠相表里理论探讨从肺论治溃疡性结肠炎. 北京中医药大学学报 2011; 34: 153-155
4 王新月, 田德禄. 溃疡性结肠炎病因病理特点与中医辨治思路对策. 北京中医药大学学报 2007; 30: 554-555
5 Keely S, Talley NJ, Hansbro PM. Pulmonary-intestinal cross-talk in mucosal inflammatory disease. *Mucosal Immunol* 2012; 5: 7-18 [PMID: 22089028 DOI: 10.1038/mi.2011.55]
6 Ramalho-Santos M, Melton DA, McMahon AP. Hedgehog signals regulate multiple aspects of gastrointestinal development. *Development* 2000; 127: 2763-2772 [PMID: 10821773]
7 Shu W, Lu MM, Zhang Y, Tucker PW, Zhou D, Morrisey EE. Foxp2 and Foxp1 cooperatively regulate lung and esophagus development. *Development* 2007; 134: 1991-2000 [PMID: 17428829 DOI: 10.1242/dev.02846]
8 Yang IV, Schwartz DA. Epigenetic control of gene expression in the lung. *Am J Respir Crit Care Med* 2011; 183: 1295-1301 [PMID: 21596832 DOI: 10.1164/rccm.201010-1579PP]
9 Horvat JC, Starkey MR, Kim RY, Phipps S, Gibson PG, Beagley KW, Foster PS, Hansbro PM. Early-life chlamydial lung infection enhances allergic airways disease through age-dependent differences in immunopathology. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 125: 617-625, 625. e1-e6 [PMID: 20122715 DOI: 10.1016/j.jaci.]
10 O'Reilly M, Hooper SB, Allison BJ, Flecknoe SJ, Snibson K, Harding R, Sozo F. Persistent bronchiolar remodeling following brief ventilation of the very immature ovine lung. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2009; 297: L992-L1001 [PMID: 19717553 DOI: 10.1152/ajplung.00099.2009]
11 Harris JK, De Groote MA, Sagel SD, Zemanick ET, Kapsner R, Penvari C, Kaess H, Deterding RR, Accurso FJ, Pace NR. Molecular identification of bacteria in bronchoalveolar lavage fluid from children with cystic fibrosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 20529-20533 [PMID: 18077362 DOI: 10.1073/pnas.0709804104]
12 Huang YJ, Kim E, Cox MJ, Brodie EL, Brown R, Wiener-Kronish JP, Lynch SV. A persistent and diverse airway microbiota present during chronic obstructive pulmonary disease exacerbations. *OMICS* 2010; 14: 9-59 [PMID: 20141328 DOI: 10.1089/omi.2009.0100]
13 Frank DN, Robertson CE, Hamm CM, Kpadeh Z, Zhang T, Chen H, Zhu W, Sartor RB, Boedeker EC, Harpaz N, Pace NR, Li E. Disease phenotype and genotype are associated with shifts in intestinal-

■同行评价
本文对COPD和IBD炎症串扰的机制进行总结, 具有较高的理论创新性.

associated microbiota in inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 179-184 [PMID: 20839241 DOI: 10.1002/ibd.21339]
14 Sartor RB. Genetics and environmental interactions shape the intestinal microbiome to promote inflammatory bowel disease versus mucosal homeostasis. *Gastroenterology* 2010; 139: 1816-1819 [PMID: 21029802 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.10.036]
15 Borody TJ, Warren EF, Leis SM, Surace R, Ashman O, Siarakas S. Bacteriotherapy using fecal flora: toying with human motions. *J Clin Gastroenterol* 2004; 38: 475-483 [PMID: 15220681 DOI: 10.1097/01.mcg.0000128988.13808.dc]
16 Grehan MJ, Borody TJ, Leis SM, Campbell J, Mitchell H, Wettstein A. Durable alteration of the colonic microbiota by the administration of donor fecal flora. *J Clin Gastroenterol* 2010; 44: 551-561 [PMID: 20716985 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3181e5d06b]
17 Shaykhiev R, Otaki F, Bonsu P, Dang DT, Teater M, Strulovici-Barel Y, Salit J, Harvey BG, Crystal RG. Cigarette smoking reprograms apical junctional complex molecular architecture in the human airway epithelium in vivo. *Cell Mol Life Sci* 2011; 68: 877-892 [PMID: 20820852 DOI: 10.1007/s00018-010-0500-x]
18 Söderholm JD, Olaison G, Peterson KH, Franzén LE, Lindmark T, Wirén M, Tagesson C, Sjödahl R. Augmented increase in tight junction permeability by luminal stimuli in the non-inflamed ileum of Crohn's disease. *Gut* 2002; 50: 307-313 [PMID: 11839706 DOI: 10.1136/gut.50.3.307]
19 Ekbom A, Brandt L, Granath F, Löfdahl CG, Egesten A. Increased risk of both ulcerative colitis and Crohn's disease in a population suffering from COPD. *Lung* 2008; 186: 167-172 [PMID: 18330638 DOI: 10.1007/s00408-008-9080-z]
20 Kuzela L, Vavrecka A, Prikazska M, Drugda B, Hronec J, Senkova A, Drugdova M, Oltman M, Novotna T, Brezina M, Kratky A, Kristufek P. Pulmonary complications in patients with inflammatory bowel disease. *Hepatogastroenterology* 1999; 46: 1714-1719 [PMID: 10430329]
21 Tzanakis NE, Tsiligianni IG, Siafakas NM. Pulmonary involvement and allergic disorders in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 299-305 [PMID: 20082474 DOI: 10.3748/wjg.v16.i3.299]
22 Black H, Mendoza M, Murin S. Thoracic manifestations of inflammatory bowel disease. *Chest* 2007; 131: 524-532 [PMID: 17296657 DOI: 10.1378/chest.06-1074]
23 Songür N, Songür Y, Tüzün M, Doğan I, Tüzün D, Ensari A, Hekimoglu B. Pulmonary function tests and high-resolution CT in the detection of pulmonary involvement in inflammatory bowel disease. *J Clin Gastroenterol* 2003; 37: 292-298 [PMID: 14506385 DOI: 10.1097/00004836-200310000-00006]
24 Douglas JG, McDonald CF, Leslie MJ, Gillon J, Crompton GK, McHardy GJ. Respiratory impairment in inflammatory bowel disease: does it vary with disease activity? *Respir Med* 1989; 83: 389-394 [PMID: 2616823 DOI: 10.1016/S0954-6111(89)80070-8]
25 Ceyhan BB, Karakurt S, Cevik H, Sungur M. Bronchial hyperreactivity and allergic status in inflammatory bowel disease. *Respiration* 2003; 70: 60-66 [PMID: 12584393 DOI: 10.1159/000068407]
26 Bauer S, Müller T, Hamm S. Pattern recognition by Toll-like receptors. *Adv Exp Med Biol* 2009; 653: 15-34 [PMID: 19799109 DOI: 10.1007/978-1-4419-0901-5_2]
27 Kinose D, Ogawa E, Hirota T, Ito I, Kudo M, Haruna A, Marumo S, Hoshino Y, Muro S, Hirai T, Sakai H, Date H, Tamari M, Mishima M. A NOD2 gene polymorphism is associated with the prevalence and severity of chronic obstructive pulmonary disease in a Japanese population. *Respirology* 2012; 17: 164-171 [PMID: 21943069 DOI: 10.1111/j.1440-1843.2011.02069.x]
28 Eckmann L, Karin M. NOD2 and Crohn's disease: loss or gain of function? *Immunity* 2005; 22: 661-667 [PMID: 15963781 DOI: 10.1016/j.immuni.2005.06.004]
29 Strober W, Kitani A, Fuss I, Asano N, Watanabe T. The molecular basis of NOD2 susceptibility mutations in Crohn's disease. *Mucosal Immunol* 2008; 1 Suppl 1: S5-S9 [PMID: 19079230 DOI: 10.1038/mi.2008.42]
30 Droemann D, Goldmann T, Tiedje T, Zabel P, Dalhoff K, Schaaf B. Toll-like receptor 2 expression is decreased on alveolar macrophages in cigarette smokers and COPD patients. *Respir Res* 2005; 6: 68 [PMID: 16004610 DOI: 10.1186/1465-9921-6-68]
31 Cantó E, Ricart E, Monfort D, González-Juan D, Balanzó J, Rodríguez-Sánchez JL, Vidal S. TNF alpha production to TLR2 ligands in active IBD patients. *Clin Immunol* 2006; 119: 156-165 [PMID: 16480927 DOI: 10.1016/j.clim.2005.12.005]
32 Shen X, Shi R, Zhang H, Li K, Zhao Y, Zhang R. The Toll-like receptor 4 D299G and T399I polymorphisms are associated with Crohn's disease and ulcerative colitis: a meta-analysis. *Digestion* 2010; 81: 69-77 [PMID: 20093834 DOI: 10.1159/000260417]
33 Rothfuss KS, Stange EF, Herrlinger KR. Extraintestinal manifestations and complications in inflammatory bowel diseases. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 4819-4831 [PMID: 16937463]
34 Sauleda J, García-Palmer FJ, González G, Palou A, Agustí AG. The activity of cytochrome oxidase is increased in circulating lymphocytes of patients with chronic obstructive pulmonary disease, asthma, and chronic arthritis. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 32-35 [PMID: 10619794]
35 Salmi M, Granfors K, MacDermott R, Jalkanen S. Aberrant binding of lamina propria lymphocytes to vascular endothelium in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 1994; 106: 596-605 [PMID: 8119529]
36 Fireman Z, Osipov A, Kivity S, Kopelman Y, Sternberg A, Lazarov E, Fireman E. The use of induced sputum in the assessment of pulmonary involvement in Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 730-734 [PMID: 10710066 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2000.01843.x]
37 Mirza ZK, Sastri B, Lin JJ, Amenta PS, Das KM. Autoimmunity against human tropomyosin isoforms in ulcerative colitis: localization of specific human tropomyosin isoforms in the intestine and extraintestinal organs. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 1036-1043 [PMID: 17075344 DOI: 10.1097/01.mib.0000231573.65935.67]
38 Pizarro TT, Arseneau KO, Cominelli F. Lessons from genetically engineered animal models XI. Novel mouse models to study pathogenic mechanisms of Crohn's disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000; 278: G665-G669 [PMID: 10801257]
39 Vargas-Rojas MI, Ramírez-Venegas A, Limón-Camacho L, Ochoa L, Hernández-Zenteno R, Sansores

RH. Increase of Th17 cells in peripheral blood of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Med* 2011; 105: 1648-1654 [PMID: 21763119 DOI: 10.1016/j.rmed.2011.05.017]

40 Rosen MJ, Frey MR, Washington MK, Chaturvedi R, Kuhnhein LA, Matta P, Revetta FL, Wilson KT, Polk DB. STAT6 activation in ulcerative colitis: a new target for prevention of IL-13-induced colon epithelial cell dysfunction. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 2224-2234 [PMID: 21308881 DOI: 10.1002/ibd.21628]

41 de Serres FJ, Blanco I, Fernández-Bustillo E. Estimating the risk for alpha-1 antitrypsin deficiency among COPD patients: evidence supporting targeted screening. *COPD* 2006; 3: 133-139 [PMID: 17240615]

42 Pillai SG, Ge D, Zhu G, Kong X, Shianna KV, Need AC, Feng S, Hersh CP, Bakke P, Gulsvik A, Ruppert A, Lødrup Carlsen KC, Roses A, Anderson W, Rennard SI, Lomas DA, Silverman EK, Goldstein DB. A genome-wide association study in chronic obstructive pulmonary disease (COPD): identification of two major susceptibility loci. *PLoS Genet* 2009; 5: e1000421 [PMID: 19300482 DOI: 10.1371/journal.pgen.1000421]

43 Van Durme YM, Eijgelsheim M, Joos GF, Hofman A, Uitterlinden AG, Brusselle GG, Stricker BH. Hedgehog-interacting protein is a COPD susceptibility gene: the Rotterdam Study. *Eur Respir J* 2010; 36: 89-95 [PMID: 19996190 DOI: 10.1183/09031936.00129509]

44 Chappell SL, Daly L, Lotya J, Alsaegh A, Guetta-Baranes T, Roca J, Rabinovich R, Morgan K, Millar AB, Donnelly SC, Keatings V, MacNee W, Stolk J, Hiemstra PS, Miniati M, Monti S, O'Connor CM, Kalsheker N. The role of IREB2 and transforming growth factor beta-1 genetic variants in COPD: a replication case-control study. *BMC Med Genet* 2011; 12: 24 [PMID: 21320324 DOI: 10.1186/1471-2350-12-24]

45 Prescott NJ, Fisher SA, Franke A, Hampe J, Onnie CM, Soars D, Bagnall R, Mirza MM, Sanderson J, Forbes A, Mansfield JC, Lewis CM, Schreiber S, Mathew CG. A nonsynonymous SNP in ATG16L1 predisposes to ileal Crohn's disease and is independent of CARD15 and IBD5. *Gastroenterology* 2007; 132: 1665-1671 [PMID: 17484864]

46 Yano T, Kurata S. An unexpected twist for autophagy in Crohn's disease. *Nat Immunol* 2009; 10: 134-136 [PMID: 19148195 DOI: 10.1038/ni0209-134]

47 Parkes M, Barrett JC, Prescott NJ, Tremelling M, Anderson CA, Fisher SA, Roberts RG, Nimmo ER, Cummings FR, Soars D, Drummond H, Lees CW, Khawaja SA, Bagnall R, Burke DA, Todhunter CE, Ahmad T, Onnie CM, McArdle W, Strachan D, Bethel G, Bryan C, Lewis CM, Deloukas P, Forbes A, Sanderson J, Jewell DP, Satsangi J, Mansfield JC, Cardon L, Mathew CG. Sequence variants in the autophagy gene IRGM and multiple other replicating loci contribute to Crohn's disease susceptibility. *Nat Genet* 2007; 39: 830-832 [PMID: 17554261]

48 Barrett JC, Lee JC, Lees CW, Prescott NJ, Anderson CA, Phillips A, Wesley E, Parnell K, Zhang H, Drummond H, Nimmo ER, Massey D, Blaszczyk K, Elliott T, Cotterill L, Dallal H, Lobo AJ, Mowat C, Sanderson JD, Jewell DP, Newman WG, Edwards C, Ahmad T, Mansfield JC, Satsangi J, Parkes M, Mathew CG, Donnelly P, Peltonen L, Blackwell JM, Bramon E, Brown MA, Casas JP, Corvin A, Craddock N, Deloukas P, Duncanson A, Jankowski J, Markus HS, Mathew CG, McCarthy MI, Palmer CN, Plomin R, Rautanen A, Sawcer SJ, Samani N, Trembath RC, Viswanathan AC, Wood N, Spencer CC, Barrett JC, Bellenguez C, Davison D, Freeman C, Strange A, Donnelly P, Langford C, Hunt SE, Edkins S, Gwilliam R, Blackburn H, Bumpstead SJ, Dronov S, Gillman M, Gray E, Hammond N, Jayakumar A, McCann OT, Liddle J, Perez ML, Potter SC, Ravindrarajah R, Ricketts M, Waller M, Weston P, Widaa S, Whittaker P, Deloukas P, Peltonen L, Mathew CG, Blackwell JM, Brown MA, Corvin A, McCarthy MI, Spencer CC, Attwood AP, Stephens J, Sambrook J, Ouwehand WH, McArdle WL, Ring SM, Strachan DP. Genome-wide association study of ulcerative colitis identifies three new susceptibility loci, including the HNF4A region. *Nat Genet* 2009; 41: 1330-1334 [PMID: 19915572 DOI: 10.1038/ng.483]

49 Fisher SA, Tremelling M, Anderson CA, Gwilliam R, Bumpstead S, Prescott NJ, Nimmo ER, Massey D, Berzuini C, Johnson C, Barrett JC, Cummings FR, Drummond H, Lees CW, Onnie CM, Hanson CE, Blaszczyk K, Inouye M, Ewels P, Ravindrarajah R, Keniry A, Hunt S, Carter M, Watkins N, Ouwehand W, Lewis CM, Cardon L, Lobo A, Forbes A, Sanderson J, Jewell DP, Mansfield JC, Deloukas P, Mathew CG, Parkes M, Satsangi J. Genetic determinants of ulcerative colitis include the ECM1 locus and five loci implicated in Crohn's disease. *Nat Genet* 2008; 40: 710-712 [PMID: 18438406 DOI: 10.1038/ng.145]

50 Churg A, Wang X, Wang RD, Meixner SC, Pryzdial EL, Wright JL. Alpha1-antitrypsin suppresses TNF-alpha and MMP-12 production by cigarette smoke-stimulated macrophages. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2007; 37: 144-151 [PMID: 17395890]

编辑 田滢 电编 闫晋利

世界华人消化杂志 2013年4月8日; 21(10): 894-898
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

miRNA干扰Rap1对肝癌细胞凋亡的影响

甘 平, 查 勇, 姚 乾, 陈 真, 谭 晶

■背景资料
肝癌细胞的凋亡是一个多基因参与的复杂的调控体系，当促凋亡基因与抑制凋亡基因失去正常的调控导致肿瘤的发生与发展. 端粒酶是一种蛋白与小分子RNA组成的核糖核酸酶，与细胞周期和肿瘤凋亡基因表达关系密切.

甘平, 查勇, 姚乾, 陈真, 谭晶, 昆明医科大学第三附属医院(云南省肿瘤医院)腹部外科 云南省昆明市 650118
甘平, 主任医师, 主要从事腹部肿瘤外科的基础与临床研究.
云南省自然科学应用基础研究基金资助项目, No. 2011FB064
作者贡献分布: 此课题由查勇选题设计; 研究过程由甘平、查勇及姚乾完成; 谭晶指导实验并对文章审阅.
通讯作者: 谭晶, 主任医师, 650118, 云南省昆明市昆州路519号, 昆明医科大学第三附属医院(云南省肿瘤医院)腹部外科. ynzlfwk@sina. com
电话: 0871-8185656-2315
收稿日期: 2012-12-25 修回日期: 2013-01-11
接受日期: 2013-02-20 在线出版日期: 2013-04-08

miRNA interference-mediated Rap1 gene silencing increases apoptosis in hepatocellular carcinoma cell line HepG2

Ping Gan, Yong Zha, Qian Yao, Zhen Chen, Jing Tan

Ping Gan, Yong Zha, Qian Yao, Zhen Chen, Jing Tan, Department of Abdominal Surgery, Yunnan Cancer Hospital, the Third Affiliated Hospital, Kunming Medical University, Kunming 650118, Yunnan Province, China
Supported by: the Applied Basic Research Program of Science and Technology Commission Foundation of Yunnan Province, No. 2011FB064
Correspondence to: Jing Tan, Chief Physician, Yunnan Cancer Hospital, the Third Affiliated Hospital, Kunming Medical University, 519 Kunzhou Road, Kunming 650118, Yunnan Province, China. ynzlfwk@sina.com
Received: 2012-12-25 Revised: 2013-01-11
Accepted: 2013-02-20 Published online: 2013-04-08

Abstract

AIM: To investigate the role of repressor/activator protein 1 (Rap1) in nuclear factor-κB (NF-κB)-mediated apoptosis of liver cancer cells.

METHODS: Hepatocellular carcinoma HepG2 cells were divided into three groups: control group, empty plasmid-transfected group, and Rap1 miRNA group. Apoptosis was determined by flow cytometry 72 h after transfection. The expression of Rap1 protein was measured by Western blot, and the expression of NF-κB p65 mRNA was measured by RT-PCR.

RESULTS: Compared to the control group and empty plasmid-transfected group, the level of Rap1 was significantly decreased and apoptosis rate (33.0% ± 5.8% *vs* 8.2% ± 2.5%, 0.6% ± 0.2%, both $P < 0.05$) was significantly increased 72 h after miRNA transfection. Cells in the Rap1 miRNA group had a significant reduction in the level of NF-κB p65 mRNA compared to controls.

CONCLUSION: Rap1 miRNA increases apoptosis in hepatocellular carcinoma cell line HepG2 by decreasing the expression of NF-κB p65.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Repressor/activator protein; Apoptosis

Gan P, Zha Y, Yao Q, Chen Z, Tan J. miRNA interference-mediated Rap1 gene silencing increases apoptosis in hepatocellular carcinoma cell line HepG2. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(10): 894-898 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/894.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i10.894

摘要

目的: 探讨抑制/激活蛋白(repressor/activator protein, Rap1)对肝癌细胞凋亡的影响及其作用机制.

方法: 肝癌细胞HepG2实验分组为: Rap1 miRNA转染组、空质粒组、对照组(空白对照组). 用流式细胞仪检测各组肝癌细胞凋亡率. 采用Western blot检测各组细胞中Rap1的表达, 用逆转录-聚合酶链反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)检测核因子κB(nuclear factor-κB, NF-κB)p65的表达.

结果: 流式细胞仪检测结果提示, 转染后72 h, Rap1 miRNA组肝癌细胞凋亡率, 比空质粒组和对照组高(33.0%±5.8% *vs* 8.2%±2.5%, 0.6%±0.2%, $P<0.05$). Rap1 miRNA转染组中Rap1, NF-κB p65表达下降.

结论: miRNA干扰Rap1能促进肝癌细胞凋亡. 同时伴有NF-κB p65表达下降.

© 2013年版权归Baishideng所有.

■同行评议者
陈海龙, 教授, 大连医科大学附属第一医院院办

关键词: 肝细胞肝癌; 抑制/激活蛋白; 凋亡

核心提示: 原发性肝细胞癌是危害人类健康的重大疾病之一, 在世界范围内是位居第6位的常见肿瘤. 原发性肝癌的发生发展与凋亡障碍存在密切的联系. 现有研究表明, 端粒结合蛋白和一些肿瘤细胞的凋亡障碍有关. 抑制/激活蛋白(repressor/activator protein, Rap1)是端粒遮蔽蛋白的成分之一. 然而, Rap1在原发性肝癌发生、发展中的作用, 文献中鲜有报道. 本研究探讨Rap1在原发性肝癌细胞凋亡调节中的作用及其作用机制, 分析针对Rap1的靶向治疗对原发性肝癌的治疗价值.

甘平, 查勇, 姚乾, 陈真, 谭晶. miRNA干扰Rap1对肝癌细胞凋亡的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(10): 894-898 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/894.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i10.894

0 引言

有效的DNA修复是肿瘤细胞对治疗产生耐受的一个重要原因[1]. 端粒是位于染色体末端的DNA-蛋白结构, 由TTAGGG重复序列和大量的端粒结合蛋白组成[1,2]. 遮蔽蛋白是端粒中的重要结构之一, 他由6个端粒结合蛋白构成: 端粒重复序列结合因子1(telomeric repeat binding factor 1, TRF1)、TRF2、端粒保护蛋白1(protection of telomeres protein 1, POT1)、端粒重复序列结合因子1相互作用核因子2(TRF1 interacting nuclear factor 2, TIN2)、三肽肽酶(tripeptidyl peptidase1, TPP1)和抑制/激活蛋白(repressor/activator protein, Rap1), 遮蔽蛋白复合体起着保护端粒的作用[3,4]. Rap1亦称为端粒重复序列结合因子2相互作用蛋白, 是端粒遮蔽蛋白中的重要成员之一[5,6]. 有研究发现端粒酶活性与肿瘤凋亡、肿瘤的发展、化学治疗耐受存在密切的关系[7-12]. 但有关Rap1与肝癌细胞及凋亡关系的报道较少. 在本研究中我们研究Rap1表达与肝癌细胞凋亡耐受的影响, 为探索有效的肝癌生物治疗的分子靶点提供实验依据.

1 材料和方法

1.1 材料 宿主菌大肠埃希菌DH5α、Rap1 miRNA(Invitrogen公司合成提供, Gene ID: 54386)、HepG2细胞株购自中科院上海细胞库; Rap1引物由上海生工生物公司合成(表1); 高糖DMEM培养基(Dulbecco's Modified Eagle Medium, DMEM)、胎牛血清购自Hyclone公司; Tunel细胞凋亡检测试剂盒、两步法逆转录-聚合酶链反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)试剂盒购自Invitrogen公司; 转染载体pcDNA6. 2-GW/EmGFP-miR(Invitrogen, Catalog no. K4936-00), 壮观霉素(Sigma, Catalog no. S4014, 培养基中的终浓度50 μg/mL), Western bolt检测一抗: RAP1(Santa公司、60 kDa、mouse)、β-actin(Abmart公司、43 kDa、mouse); 二抗: Goat anti-rabbit and mouse IgG-HRP(Abmart公司); RNA抽提液TRIzol、一步法RT-PCR试剂盒购自Invitrogen公司.

表 1 RT-PCR引物

目的基因	引物序列
β-actin	5'-TTAGCTCTCGCGCTACTCCTCTC-3'
	3'-GTCGGATTGATGAAACCCAGACACA-5'
NF-κB p65	5'-GGGAAGGAACGCTGTCAGAG-3'
	3'-TAGCCTCAGGGTACTCCATCA-5'

1.2 方法

1.2.1 分组: HepG2肝癌细胞为研究对象, 按照处理因素的不同实验分组为: Rap1 miRNA转染组、空质粒组、对照组(空白对照组), 采用脂质体2000转染.

1.2.2 细胞培养: 采用高糖DMEM培养(Hyclone公司), 培养液中含100 mL/L的胎牛血清, 置入含50 mL/L CO_2的培养箱中, 温度为37 ℃.

1.2.3 细胞转染: 待HepG2细胞成对数期生长时, 用0.25%胰酶消化、铺板于6孔板中, 每孔细胞数约2×10^5个, 采用含10% 0 mL/L胎牛血清的培养液培养, 待细胞生长至满60%-80%视野时, 开始转染试验. 以脂质体2000为载体, 具体操作步骤按照Invitrogen公司提供的实验方案. 转染后72 h在荧光倒置显微镜下观察绿色荧光, 评估转染效率.

1.2.4 采用Western blot检测miRNA干扰后Rap1的表达: 收集各组细胞, 裂解细胞并提取蛋白, 取30 μg总蛋白行12%聚丙烯酰胺凝胶电泳, 电转移至聚偏二氟乙烯膜上, 5%脱脂奶粉封闭1 h后, RAP1鼠抗人单克隆抗体(1∶300稀释)4 ℃过夜. TBST洗膜后, 加辣根过氧化物酶标记的二抗(1∶5 000稀释)室温温育1 h. 同时以β-actin为参照: 转膜后蛋白先与β-actin一抗(1∶1 000稀释)反应, 再与其相应二抗(1∶5 000稀释)反应. TBST洗膜后, ECL增强发光, X线曝光1-5 min. 测定条带的吸光度代表蛋白表达强度, RAP1蛋白相对表达水平.

■研究前沿
抑制/激活蛋白(Rap1)是端粒酶中遮蔽蛋白的重要成员之一, 最近研究发现Rap1存在IκB激酶复合物中. 然而端粒与核因子κB(NF-κB)对肝癌细胞凋亡调节的关系尚未完全明确.

■相关报道
Teo等的研究发现, 抑制Rap1和IκB激酶2均可导致等比例的p65磷酸化水平降低, 同时增加TNF-α诱导MCF7凋亡的敏感性.

■创新盘点
本研究结果显示, 抑制Rap1表达可促进肝癌细胞凋亡, 伴有NF-κB p65表达下降.

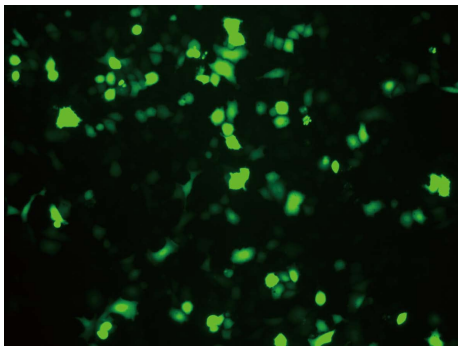


图 1 pcDNA6.2-GW/EmGFP-miR转染细胞, 倒置荧光显微镜下观察细胞.

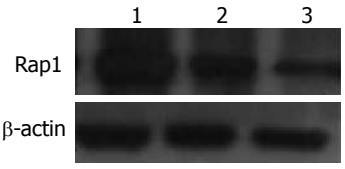


图 2 在Rap1 miRNA转染后72 h, Western blot检测HepG2细胞Rap1的表达. 1: 对照组; 2: 空质粒组; 3: Rap1 miRNA转染组.

1.2.5 流式细胞仪检测肝癌细胞的凋亡: 收集72 h各组细胞, 将细胞先用冷PBS洗涤. 用Tunel细胞凋亡检测试剂盒检测细胞凋亡率, 按试剂盒提供的方法进行染色, 加入含有10 μg/mL PI和0.1% RNase A的PBS液500 μL, 室温避光染色30 min后上流式细胞仪测定细胞周期及凋亡率. 流式细胞仪检测细胞凋亡率.

1.2.6 采用RT-PCR检测miRNA干扰后核因子κB p65的表达: 采用TRIzol法提取各组细胞总RNA, 总RNA紫外分光光度计测A_{260}、A_{280}值, 标本的总RNA的A_{260}/A_{280}值均在1.6-1.8之间. RNA产物暂时保存于-80 ℃冰箱或直接用于RT-PCR实验.

按照Invitrogen一步法RT-PCR试剂盒设置反应体系. PCR反应条件, 核因子κB(nuclear factor-κB, NF-κB)p65的反应参数为94 ℃ 45 s, 55 ℃ 45 s, 72 ℃ 45 s, 32循环, 最后72 ℃ 10 min(扩增产物长为204 bp); β2-actin的反应参数为94 ℃ 45 s, 55.5 ℃ 45 s, 72 ℃ 45 s, 32循环, 最后72 ℃ 10 min(扩增产物长为264 bp).

将PCR产物电泳后, 用美国Gene-Genus凝胶电泳成像系统对DNA电泳条带进行光密度β扫描, 以目标基因与β-actin的密度比值作为目标基因表达水平的参数.

统计学处理 采用SPSS11.0统计软件, 计量资料用mean±SD表示, 两样本均数比较采用成组t检验, 计数资料比较采用χ^2检验. P<0.05认为具有统计学意义.

■应用要点
Rap1是原发性肝癌中有意义的生物治疗靶点, 其作用机制与NF-κB转录因子有关.

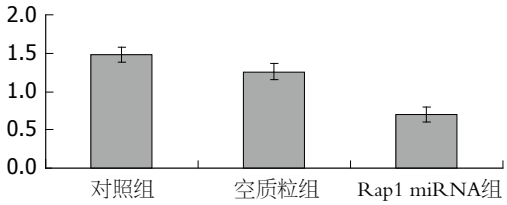


图 3 Rap1 miRNA转染后, Western blot检测Rap1与β-actin的相对表达.

2 结果

2.1 Rap1 miRNA的转染效率 pcDNA6.2-GW/EmGFP-miR转染细胞, 倒置荧光显微镜下观察细胞, 约80%以上的细胞发出较强的绿色荧光(图1).

2.2 Western blot检测Rap1的表达 为了观察脂质体转染Rap1 miRNA的效率, 我们采用Western blot检测Rap1 miRNA转染后72 h Rap1的表达, 并与对照组、空质粒组比较. 结果显示, Rap1 miRNA组Rap1表达量比对照组及空质粒组显著降低. 提示Rap1 miRNA达到了对Rap1转录的有效抑制(图2, 3).

2.3 Rap1 miRNA对肝癌HepG2细胞凋亡的影响 为了检测Rap1 miRNA对肝癌细胞HepG2凋亡的影响, 我们采用流式细胞仪检测各组肝癌细胞的凋亡率. 结果提示, Rap1 miRNA组肝癌细胞凋亡率, 比空质粒组和对照组高(33.0%±5.8% *vs* 8.2%±2.5%, 0.6%±0.2%, P<0.05, 图4).

2.4 Rap1 miRNA抑制NF-κB p65的表达 为了进一步的明确Rap1对肝细胞癌凋亡的调节与NF-κB转录因子的关系, 我们采用RT-PCR检测NF-κB p65的表达. 结果显示, Rap1 miRNA转染组中NF-κB p65表达下降, 与对照组相比, 差异具有显著性. 本研究结果提示, Rap1 miRNA促进肝癌细胞的凋亡可能是通过下调NF-κB p65表达而发挥生物学效应(图5, 6).

3 讨论

近年来研究表明, 端粒和端粒酶在肿瘤的发生和发展中起着重要的作用, 端粒酶的激活是恶性肿瘤发生学上的一个共同途径, 而端粒酶则是各种恶性肿瘤细胞一个共同的分子标志物[13]. 亦有研究发现端粒和端粒酶参与肿瘤细胞的凋亡调节[7,14]. 遮蔽蛋白是一种重要的端粒酶复合物, 他由6种蛋白复合物构成, 亚单元TRF1独立的结合于TTAGGG重复序列, POT1识别悬挂于端粒末端的短链序列, TPP1、TIN2和Rap1在其中起着连接的作用, 同时具有保护DNA避免损伤和

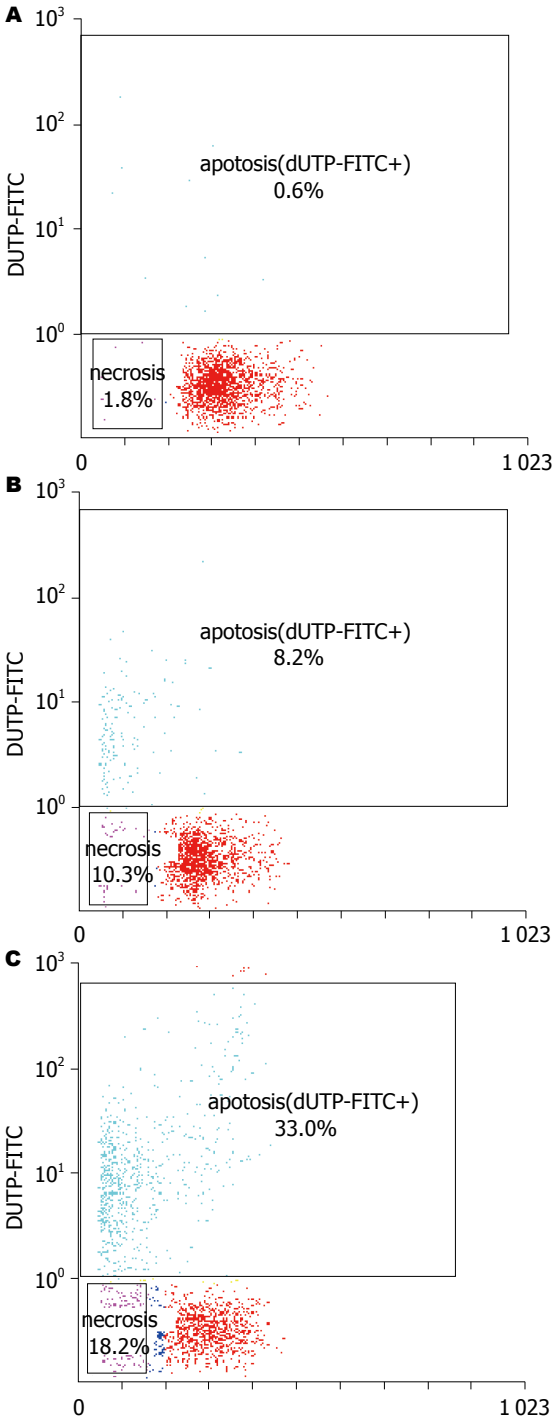


图 4 流式细胞仪检测肝癌细胞HepG2凋亡. A: 对照组; B: 空质粒组; C: Rap1 miRNA组.

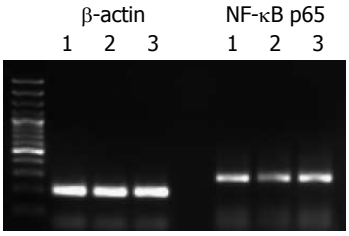


图 5 各组细胞中NF-κB p65的表达. 1: 空质粒组; 2: Rap1 miRNA转染组; 3: 对照组.

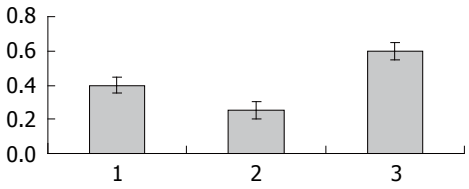


图 6 不同治疗组肿瘤细胞NF-κB p65与β-actin miRNA的相对表达量. 1: 空质粒组; 2: Rap1 miRNA转染组; 3: 对照组.

促进损伤DNA末端修复的功能[3,14]. Rap1是遮蔽蛋白的亚单元之一, 可与TRF2相互作用. Rap1在防止染色体端粒再结合、可防止姐妹染色单体互换、断裂中起着重要的作用, Rap1过度表达时可导致端粒延长[14]. 亦有发现Rap1同时具有端粒和非端粒功能, 与乳腺癌等肿瘤细胞的凋亡调节有关[15].

现有研究表明Rap1在一些肿瘤中表达增加, 与肿瘤分级及患者预后存在密切的关系. 在Teo等[16]的研究中, 作者采用免疫组织化学和组织芯片技术观察Rap1在乳腺癌中的表达, 结果显示在非肿瘤组织中阴性表达, 在肿瘤组织中有较高的阳性表达率, 在浸润性导管癌中的阳性表达率为96%, 在浸润性小叶癌中的阳性表达率为100%, 与肿瘤周围组织存在显著的差异, $P<0.01$. 而且Rap1的表达强度与浸润性导管癌的分级成正相关. Bailey等[17]的研究表明, Rap1可促进前列腺癌的进展和转移, 采用miRNA抑制Rap1A后, 前列腺癌细胞的侵袭、迁移能力受到抑制. 在本研究中我们发现, 采用Rap1 miRNA抑制Rapl表达后肝癌细胞凋亡率增加, 表明Rapl具有抑制肿瘤细胞凋亡的功能.

Martinez等[14]的研究表明Rap1同时具有端粒和非端粒功能, 位于端粒中Rap1可调节端粒的功能, 位于细胞浆中的Rap1与基因的转录有关, 端粒的长度可影响端粒结合Rap1和细胞浆中Rap1比例. 最近亦有研究采用免疫共沉淀的方法发现Rap1存在IKK复合物中, Teo等[16]的研究发现, 抑制Rap1和IκB激酶2(IκB Kinase 2, IKK2)均可导致等比例的p65磷酸化水平降低, 同时增加肿瘤坏死因子诱导MCF7凋亡的敏感性. 抑制Rap1和IKK2可产生同等强度的凋亡效应, 抑制Rap1同时可降低乳腺癌细胞的侵袭性. Guo等[18]研究表明在肝癌细胞株HepG2中顺铂可诱导NF-κB p65和hTERT的表达增加, 同时伴有端粒酶活性及NF-κB活性增强. 抑制hTERT和NF-κB均可使肝癌的化疗敏感性增强. 以上研究提示, Rap1在肿瘤凋亡调节中的作用可能与NF-κB转录因子有关. 我们的结果显示, Rap1

■名词解释

Rap1: 亦称为端粒重复序列结合因子2相互作用蛋白, 是端粒遮蔽蛋白中的重要成员之一, 其与肿瘤凋亡、肿瘤的发展、化学治疗耐受存在密切的关系.

■同行评价
本文主要是利用肝癌细胞系HepG2来研究miRNA干扰Rap1对肝癌细胞凋亡的影响，思路清楚，重点突出，有一定的科学意义.

miRNA转染组中NF-κB p65表达下降, 与对照组相比, 差异具有显著性. 本研究结果提示, Rap1 miRNA促进肝癌细胞的凋亡可能是通过下调NF-κB p65表达而发挥生物学效应.

总之, 抑制Rap1可提高肝癌细胞增加凋亡率, 提示Rap1是原发性肝癌中有意义的生物治疗靶点, 其机制与NF-κB转录因子有关.

4 参考文献

1 Kang TH, Lindsey-Boltz LA, Reardon JT, Sancar A. Circadian control of XPA and excision repair of cisplatin-DNA damage by cryptochrome and HERC2 ubiquitin ligase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 4890-4895 [PMID: 20304803 DOI: 10.1073/pnas.0915085107]

2 Lu W, Zhang Y, Liu D, Songyang Z, Wan M. Telomeres-structure, function, and regulation. *Exp Cell Res* 2013; 319: 133-141 [PMID: 23006819 DOI: 10.1016/j.yexcr.2012.09.005]

3 Giraud-Panis MJ, Teixeira MT, Géli V, Gilson E. CST meets shelterin to keep telomeres in check. *Mol Cell* 2010; 39: 665-676 [PMID: 20832719 DOI: 10.1016/j.molcel.2010.08.024]

4 Mukherjee S, Firpo EJ, Wang Y, Roberts JM. Separation of telomerase functions by reverse genetics. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: E1363-E1371 [PMID: 21949400 DOI: 10.1073/pnas.1112414108]

5 Sfeir A, Kabir S, van Overbeek M, Celli GB, de Lange T. Loss of Rap1 induces telomere recombination in the absence of NHEJ or a DNA damage signal. *Science* 2010; 327: 1657-1661 [PMID: 20339076 DOI: 10.1126/science.1185100]

6 Arat NÖ, Griffith JD. Human Rap1 interacts directly with telomeric DNA and regulates TRF2 localization at the telomere. *J Biol Chem* 2012; 287: 41583-41594 [PMID: 23086976 DOI: 10.1074/jbc.M112.415984]

7 Demarse NA, Ponnusamy S, Spicer EK, Apohan E, Baatz JE, Ogretmen B, Davies C. Direct binding of glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase to telomeric DNA protects telomeres against chemotherapy-induced rapid degradation. *J Mol Biol* 2009; 394: 789-803 [PMID: 19800890 DOI: 10.1016/j.jmb.2009.09.062]

8 Cosconati S, Rizzo A, Trotta R, Pagano B, Iachettini S, De Tito S, Lauri I, Fotticchia I, Giustiniano M, Marinelli L, Giancola C, Novellino E, Biroccio A, Randazzo A. Shooting for selective druglike G-quadruplex binders: evidence for telomeric DNA damage and tumor cell death. *J Med Chem* 2012; 55: 9785-9792 [PMID: 23057850 DOI: 10.1021/jm301019w]

9 Taboski MA, Sealey DC, Dorrens J, Tayade C, Betts DH, Harrington L. Long telomeres bypass the requirement for telomere maintenance in human tumorigenesis. *Cell Rep* 2012; 1: 91-98 [PMID: 22832159 DOI: 10.1016/j.celrep.2011.12.004]

10 Tao SF, Zhang CS, Guo XL, Xu Y, Zhang SS, Song JR, Li R, Wu MC, Wei LX. Anti-tumor effect of 5-aza-2'-deoxycytidine by inhibiting telomerase activity in hepatocellular carcinoma cells. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 2334-2343 [PMID: 22654424 DOI: 10.3748/wjg.v18.i19.2334]

11 Miyazaki T, Pan Y, Joshi K, Purohit D, Hu B, Demir H, Mazumder S, Okabe S, Yamori T, Viapiano M, Shin-ya K, Seimiya H, Nakano I. Telomestatin impairs glioma stem cell survival and growth through the disruption of telomeric G-quadruplex and inhibition of the proto-oncogene, c-Myb. *Clin Cancer Res* 2012; 18: 1268-1280 [PMID: 22230766 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-1795]

12 Xu T, He K, Wang L, Goldkorn A. Prostate tumor cells with cancer progenitor properties have high telomerase activity and are rapidly killed by telomerase interference. *Prostate* 2011; 71: 1390-1400 [PMID: 21321978 DOI: 10.1002/pros.21355]

13 纪冬, 游绍莉, 辛绍杰. 端粒酶的研究进展. 军医进修学院学报 2010; 31: 508-510

14 Martinez P, Thanasoula M, Carlos AR, Gómez-López G, Tejera AM, Schoeftner S, Dominguez O, Pisano DG, Tarsounas M, Blasco MA. Mammalian Rap1 controls telomere function and gene expression through binding to telomeric and extratelomeric sites. *Nat Cell Biol* 2010; 12: 768-780 [PMID: 20622869 DOI: 10.1038/ncb2081]

15 Papai G, Tripathi MK, Ruhlmann C, Layer JH, Weil PA, Schultz P. TFIIA and the transactivator Rap1 cooperate to commit TFIID for transcription initiation. *Nature* 2010; 465: 956-960 [PMID: 20559389 DOI: 10.1038/nature09080]

16 Teo H, Ghosh S, Luesch H, Ghosh A, Wong ET, Malik N, Orth A, de Jesus P, Perry AS, Oliver JD, Tran NL, Speiser LJ,Wong M, Saez E, Schultz P, Chanda SK, Verma IM, Tergaonkar V. Telomere-independent Rap1 is an IKK adaptor and regulates NF-kappaB-dependent gene expression. *Nat Cell Biol* 2010; 12: 758-767 [PMID: 20622870 DOI: 0.1038/ncb2080 DOI: 10.1038/ncb2080]

17 Bailey CL, Kelly P, Casey PJ. Activation of Rap1 promotes prostate cancer metastasis. *Cancer Res* 2009; 69: 4962-4968 [PMID: 19470770 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-4269]

18 Guo XL, Ma NN, Zhou FG, Zhang L, Bu XX, Sun K, Song JR, Li R, Zhang BH, Wu MC, Wei LX. Up-regulation of hTERT expression by low-dose cisplatin contributes to chemotherapy resistance in human hepatocellular cancer cells. *Oncol Rep* 2009; 22: 549-556 [PMID: 19639202]

编辑 李军亮 电编 闫晋利

世界华人消化杂志 2013年4月8日; 21(10): 899-903
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

新疆伊犁哈萨克族自治州10年食管癌内镜诊断476例

刘晓燕, 陈卫刚, 郑 勇, 齐翠花, 赵 强, 韩玉胜, 窦玉勤

刘晓燕, 陈卫刚, 郑勇, 齐翠花, 赵强, 新疆石河子大学医学院第一附属医院消化内科 新疆维吾尔自治区石河子市 832000
韩玉胜, 新疆伊犁哈萨克族自治州友谊医院消化内科 新疆维吾尔自治区伊宁市 835000
窦玉勤, 新疆生产建设兵团农四师医院消化内科 新疆维吾尔自治区伊宁市 835000
刘晓燕, 硕士, 主要从事消化系疾病的研究.
国家“十一五”科技支撑计划项目课题, No. 2009BAI82B05
作者贡献分布: 此课题由郑勇、陈卫刚、刘晓燕及齐翠花设计; 研究过程与论文写作由刘晓燕操作完成; 研究所有数据收集工作由韩玉胜与窦玉勤共同完成; 数据分析由赵强与刘晓燕共同完成.
通讯作者: 陈卫刚, 副教授, 主任医师, 硕士生导师, 832000, 新疆维吾尔自治区石河子市北二路, 石河子大学医学院第一附属医院消化内科. cwg_sh@126.com
收稿日期: 2013-01-22 修回日期: 2013-02-28
接受日期: 2013-03-21 在线出版日期: 2013-04-08

Endoscopic diagnosis of esophageal carcinoma inYili Kazak Autonomous Prefecture in Xinjiang over the past ten years: An analysis of 476 cases

Xiao-Yan Liu, Wei-Gang Chen, Yong Zheng, Cui-Hua Qi, Qiang Zhao, Yu-Sheng Han, Yu-Qin Dou

Xiao-Yan Liu, Wei-Gang Chen, Yong Zheng, Cui-Hua Qi, Qiang Zhao, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Medical College of Shihezi University, Shihezi 832000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Yu-Sheng Han, Department of Gastroenterology, Youyi Hospital of Yili Kazak Autonomous Prefecture, Yining 835000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Yu-Qin Dou, Department of Gastroenterology, Production and Construction Corps-Four Division Hospital, Yining 835000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Supported by: The Subject of National "Eleventh Five-Year" Scientific and Technological Support Projects, No. 2009BAI82B05
Correspondence to: Wei-Gang Chen, Associate Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Medical College of Shihezi University, Beier Road, Shihezi 832000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. cwg_sh@126.com
Received: 2013-01-22 Revised: 2013-02-08
Accepted: 2013-03-21 Published online: 2013-04-08

Abstract

AIM: To investigate the composition ratio and epidemiological characteristics of 476 cases of esophageal cancer endoscopically diagnosed in Yili Kazak Autonomous Prefecture in Xinjiang over the past 10 years.

METHODS: Four hundred and seventy-six patients with endoscopically diagnosed and pathologically confirmed esophageal cancer, who were treated at Youyi Hospital of Yili Kazak Autonomous Prefecture and Production and Construction Corps-Four Division Hospital in Xinjiang from January 2002 to January 2012, were included in this study. The detection rate, age, sex ratio, lesion site and tumor type were analyzed.

RESULTS: Males accounted for 71.64% (341/476) of all cases, females accounted for 28.36% (135/476), and the male/female ratio was 2.53:1. The average age of esophageal cancer patients was 62.23 years, and 97.5% of the patients were more than 40 years old. The middle segment of the esophagus was most commonly affected, followed by the lower segment and upper segment. The most common type of esophageal carcinoma was squamous cell carcinoma (86.34%), followed by adenocarcinoma. A total of 476 cases of esophageal cancer were endoscopically detected in 31 613 patients, and the detection rate was 1.5%. The detection rate in Kazak patients was significantly higher than that in other ethnic groups (Han, Uygur, and Hui) ($P < 0.001$).

CONCLUSION: The detection rate and constituent ratio of esophageal cancer in Kazak are significantly higher than those in other ethnic groups.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Esophageal carcinoma; Kazak; Epidemiology

Liu XY, Chen WG, Zheng Y, Qi CH, Zhao Q, Han YS, Dou YQ. Endoscopic diagnosis of esophageal carcinoma inYili Kazak Autonomous Prefecture in Xinjiang over the past ten years: An analysis of 476 cases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(10): 899-903 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/899.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i10.899

■背景资料
除河南省林县外, 新疆伊犁哈萨克族自治州也是我国食管癌高发区, 伊犁州哈萨克族食管癌高发与其遗传因素及独特的饮食习惯密切相关. 本研究旨在发现哈萨克族独特的流行病学特点, 为其一级预防提供重要的理论依据.

■同行评议者
姜春萌, 教授, 大连医科大学附属第二医院消化科; 吴建兵, 教授, 主任医师, 南昌大学第二附属医院肿瘤科

■研发前沿
食管癌是我国最常见的恶性肿瘤. 早期可无症状, 一般出现进行性吞咽困难已为中晚期, 其预后极差, 5年生存率仅为10%左右. 故对食管癌早期发现、早期诊断及治疗成为近年来的研究热点.

摘要

目的: 探讨新疆伊犁哈萨克族自治州10年间476例食管癌构成比及流行病学特点.

方法: 对2002-01/2012-01新疆伊犁哈萨克族自治州友谊医院和新疆生产建设兵团农四师医院内窥镜诊断, 病理组织学确诊的476例食管癌患者为对象建立SPSS数据库, 统计各民族食管癌的检出率并分析各民族间这10年食管癌患病的性别比、患病年龄、病变部位和鳞腺癌方面的变化.

结果: (1)476例食管癌中, 男性占71.64%(341例), 女性占28.36%(135例), 男女之比为2.53∶1; (2)食管癌发病的平均年龄为62.23岁; (3)食管癌的病变部位以中段居多, 下段次之, 上段最少, 中老年易患, 97.5%的患者发病在40岁以后, 男性高于女性; (4)鳞状上皮癌最多见, 占总食管癌的86.34%, 腺癌次之; (5)31 613例胃镜结果中检出食管癌476例, 检出率1.5%; 其中哈族检出率显著高于其他民族(汉族、维族、回族), 差异有统计学意义(P<0.001).

结论: 476例食管癌中哈萨克族的检出率及构成比显著高于其他民族, 在对其防治上具有重要的指导意义.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 食管癌; 哈萨克族; 流行病学

核心提示: 哈萨克族食管癌发病有其独特的流行病学特点, 我们应针对不同民族采取相应的教育和措施, 重视哈萨克族食管癌的防治, 尽可能的降低食管癌的发病率, 做到早诊早治, 提高食管癌的防治水平和哈萨克族农牧民的生活水平和生存质量.

刘晓燕, 陈卫刚, 郑勇, 齐翠花, 赵强, 韩玉胜, 窦玉勤. 新疆伊犁哈萨克族自治州10年食管癌内镜诊断476例. 世界华人消化杂志 2013; 21(10): 899-903 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/899.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i10.899

■相关报道
周旭东、陈红梅报道的《新疆哈萨克族食管癌136例临床分析》中发现哈族食管癌检出率显著高于汉族和其他少数民族(P<0.01)且哈族食管癌的发病年龄有前移现象.

0 引言

我国是食管癌高发国家, 又是食管癌死亡率最高的国家. 伊犁哈萨克族自治州是食管癌高发区, 位于中国新疆维吾尔自治区中西部, 西部紧邻欧亚国家哈萨克斯坦. 全州总面积35万平方公里, 人口500多万人, 有哈萨克、汉、维吾尔、回、蒙古、锡伯等47个民族成份, 其中哈萨克族占25.5%, 就发病地区与人群而言, 除河南林县是世界食管癌高发区之外, 我国新疆哈萨克族食管癌的发病率也远高于全国平均水平, 达33.9/10万, 与中亚地区哈萨克族食管癌发病率相当. 为了提高哈萨克族人群对食管癌的认识和食管癌的诊治水平, 我们对2002-01/2012-01在新疆伊犁哈萨克族自治州友谊医院和新疆生产建设兵团农四师医院接受胃镜检查的31 613例患者中确诊的476例食管癌患者进行分析, 结果如下.

1 材料和方法

1.1 材料 统计分析2002-01/2012-01在食管癌高发区伊犁友谊医院和兵团农四师人民医院经胃镜诊断、病理组织学确诊的476例食管癌患者, 其中男341例, 女135例, 其比例为2.53∶1; 中位年龄62岁, <40岁的12例, 占2.52%, 发病高峰年龄为60岁以上. 476例食管癌患者中哈族占43.28%(206/476)、汉族占31.93%(152/476)、维族占14.91%(71/476)、回族占4.62%(22/476).

1.2 方法 将全部476例食管癌患者的姓名、性别、年龄、民族及病理结果输入计算机, 建立SPSS数据库. 此工作由高年资医师和硕士研究生组成专职小组, 并集中培训, 再经人工复核完成. 用SPSS17.0统计软件进行统计学分析, 各民族检出率之间比较采用χ^2检验, P<0.05有统计学意义.

2 结果

2.1 部位 上段食管癌79例, 占16.6%, 中段食管癌297例, 占62.39%, 下段食管癌100例, 占21%.

2.2 性别、年龄分布 476例食管癌患者中, 男性所占百分率均高于女性, 其中, 哈萨克族男性所占百分率最高, 为29.2%(139/476)(表1).

2.3 年龄、民族分布 476例食管癌患者中年龄≥60岁以上者居多, 占食管癌总人数的64.92%(309/476), 其次为年龄≥40岁且<60岁的年龄段占食管癌总人数的32.56%(155/476), <40岁的占2.52%(12/476)(表2).

2.4 病理类型分布 476例食管癌患者中, 鳞癌占总食管癌的86.34%(411/476), 腺癌次之占总食管癌的8.4%(40/476)(表3).

2.5 民族间检出率比较 经统计学检验, 哈族检出率与汉族、维族、回族之间差异有统计学意义(P<0.001). 与其他民族相比, 差异无统计学意义(P = 0.43, 表4).

表 1 按照性别、民族分布 *n*(%)

民族	男	女	合计
哈族	139(29.2)	67(14.08)	206(43.28)
汉族	114(23.95)	38(7.98)	152(31.93)
维族	52(10.92)	19(3.99)	71(14.91)
回族	18(3.78)	4(0.84)	22(4.62)
其他民族	18(3.78)	7(1.47)	25(5.25)
合计	341(71.64)	135(28.36)	476(1)

表 2 按照年龄、民族分布 (*n*)

分组(岁)	民族					合计 *n*(%)
	哈族	汉族	维族	回族	其他民族	
<40	4	3	5	0	0	12(2.52)
≥40且<60	82	41	17	4	11	155(32.56)
≥60	120	108	49	18	14	309(64.92)
合计	206	152	71	22	25	476(1)

表 3 按病理类型分布 (*n*)

病理类型	民族					合计 *n*(%)
	哈族	汉族	维族	回族	其他民族	
鳞癌	182	131	60	16	22	411(86.34)
腺癌	10	16	9	4	1	40(8.4)
鳞腺癌	1	1	1	0	0	3(0.63)
未分化癌	13	4	1	2	2	22(4.62)
合计	206	152	71	22	25	476(1)

表 4 民族间检出率比较

民族	受检总人数(*n*)	检出人数(*n*)	检出率(%)	χ^2值	*P*值
哈族	3 465	206	5.95		
汉族	23 420	152	0.65	644.39	0
维族	2 392	71	2.97	27.83	0
回族	1 842	22	1.19	66.02	0
其他民族	494	25	5.06	0.62	0.43

■创新盘点

本文进行了更大样本的收集, 对伊犁州哈萨克族食管癌的发病年龄、性别、民族分布、部位、病理类型、民族间检出率进行了更详细的报道.

3 讨论

食管癌位居全球癌症死亡率第8位[1], 且恶性程度很高[2]. 我国是食管癌高发国家, 又是食管癌死亡率最高的国家. 食管癌在我国恶性肿瘤死亡中占第4位[3]. 流行病学调查显示, 在新疆北部以游牧为生的哈萨克族食管癌的标化死亡率(68.95/10万)是全国平均水平(14.95/10万)的4倍, 其发病率也高于同地区的其他民族, 其中新疆托里县哈萨克族食管癌的发病率高达155.9/10万, 远高于同地区其他民族(22.3/10万)[4]. 本课题组2005年对哈萨克族食管癌高发区新源县22万人的死因调查及监测结果显示, 2000-2005年该县哈萨族食管癌的死亡率41.1/10万, 当地汉族食管癌死亡率为8.8/10万[5], 约为当地汉族的4.7倍. 因此哈萨克族食管癌流行病学的研究显得尤为重要.

食管癌发病率在地域性的肿瘤高发区年龄是一个最常见也是最重要的因素. 我们对31 613份内镜结果分析发现, 476份食管癌构成比中年龄<40岁占2.52%, 40-60岁占32.56%, 60岁以上

■应用要点
476例食管癌中哈萨克族的检出率及构成比显著高于其他民族, 在对其防治上具有重要的指导意义.

占64.92%. 70年代初期我国食管癌高发区人群普查年龄下限界定在30岁以上[6], 陈志峰等[7]的研究报道将食管癌高危人群年龄的界定选择45岁以上. 从本文年龄分组胃镜诊断结果的分析, 可明显看到随年龄增长食管癌构成比逐渐升高. 如选择45岁以上甚至40岁以上作为高危人群的确定条件之一, 显然对浓集高危人群, 提高食管癌2级预防是十分有益的.

伊犁州友谊医院和兵团农四师医院10年间共做胃镜31 613例, 检出食管癌476例, 检出率1.5%; 其中以鳞状上皮癌最多见, 占总食管癌的86.34%, 食管癌的病变部位以中段居多, 下段次之, 上段最少, 中老年易患, 97.5%的患者发病在40岁以后, 男性高于女性, 其比例为2.53∶1; 哈族检出食管癌206例, 占受检哈族患者数5.95%, 汉族检出食管癌152例, 占受检汉族患者数的0.65%, 维族检出食管癌71例, 占受检维族患者数2.97%, 回族检出食管癌25例, 占受检回族患者数的1.19%. 各民族间对比, 哈族食管癌检出率显著高于汉族和其他少数民族(P<0.001). 本资料表明食管癌的发病不仅具有地区性分布差异还与民族密切相关[8]. 生活在同一地区的各民族中, 哈族食管癌检出率最高, 这与哈萨克族特殊的生活习性及文化水平密切相关. 大量吸烟、酗酒、经济落后、营养缺乏, 喜食高温奶茶、高盐饮食、熏马肉类制品, 很少吃新鲜蔬菜、水果导致食物中缺乏维生素A、B、C和叶酸是其致病因素[9-11]; 加上食用霉变、过硬、过热和腌制食物引起食管黏膜的物理损伤和慢性炎症、人乳头瘤病毒感染率较高[12,13]也是导致食管癌发病的主要原因. 另外哈萨克族农牧民文化水平较低, 对食管癌的认识、重视水平不够, 有病得不到早诊早治, 大多来院就诊的患者均病情较重, 故检出率高. 因此, 我们应加强哈萨克族农牧民的食管癌防治工作, 广泛宣传卫生健康知识, 改变其不良的生活、饮食习惯, 尽可能减少致癌因素对哈萨克族牧民的影响. 对有吞咽时有胸骨后不适、烧灼感、针刺样或牵拉样痛, 进食通过缓慢并有滞留的感觉或者轻度哽咽感者应仔细观察食管黏膜颜色及形态变化. 要多部位准确取材, 最好应用染色内镜[14]指导活检, 提高食管癌的检出率, 对可疑患者要做好随访工作. 对于食管癌确诊患者, 应用超声内镜检查准确判断食管癌的壁内浸润深度、异常肿大的淋巴结以及明确肿瘤对周围器官的浸润情况, 对肿瘤分期、治疗方案的选择以及预后判断有重要意义[15,16].

总之, 哈萨克族食管癌发病有其独特的流行病学特点, 我们应针对不同民族采取相应的教育和措施, 重视哈萨克族食管癌的防治, 尽可能地降低食管癌的发病率, 做到早诊早治, 提高食管癌的防治水平和哈萨克族农牧民的生活水平和生存质量.

4 参考文献

1 Kamangar F, Dores GM, Anderson WF. Patterns of cancer incidence, mortality, and prevalence across five continents: defining priorities to reduce cancer disparities in different geographic regions of the world. *J Clin Oncol* 2006; 24: 2137-2150 [PMID: 16682732]
2 Wu M, Zhao JK, Zhang ZF, Han RQ, Yang J, Zhou JY, Wang XS, Zhang XF, Liu AM, van' t Veer P, Kok FJ, Kampman E. Smoking and alcohol drinking increased the risk of esophageal cancer among Chinese men but not women in a high-risk population. *Cancer Causes Control* 2011; 22: 649-657 [PMID: 21321789 DOI: 10.1007/s10552-011-9737-4]
3 Chen W, He Y, Zheng R, Zhang S, Zeng H, Zou X, He J. Esophageal cancer incidence and mortality in China, 2009. *J Thorac Dis* 2013; 5: 19-26 [PMID: 23372946 DOI: 10.3978/j.issn.2072-1439.2013.01.04]
4 张昌明, 张建龙, 张琼, 张铸, 张海平, 孙清超, 丁旭, 刘钰莉, 伊力亚尔•夏合丁. 新疆汉族、维吾尔族及哈萨克族食管癌血清蛋白质指纹图谱. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1773-1779
5 王秀梅, 杰恩斯, 马彦清, 陈波, 郭小进, 阿力木太, 哈那提, 李锋, 杨磊, 秦江梅. 新疆哈萨克族食管癌危险因素病例对照研究. 中国公共卫生 2007; 23: 737-738
6 河南省肿瘤防治研究队. 食管癌的早期诊断. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 1973: 12
7 陈志峰, 丁镇伟, 张俊会, 李绍森, 乔翠云, 王继信. 食管癌高危人群年龄界定探讨. 河南肿瘤学杂志 2003; 16: 88-89
8 赵化荣, 刘攀, 包永星. 新疆地区3748例老年恶性肿瘤的疾病谱分析. 实用医学杂志 2011; 27: 2771-2773
9 Fang Y, Xiao F, An Z, Hao L. Systematic review on the relationship between genetic polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase and esophageal squamous cell carcinoma. *Asian Pac J Cancer Prev* 2011; 12: 1861-1866 [PMID: 22126580]
10 Wang JB, Fan JH, Liang H, Li J, Xiao HJ, Wei WQ, Dawsey SM, Qiao YL, Boffetta P. Attributable causes of esophageal cancer incidence and mortality in China. *PLoS One* 2012; 7: e42281 [PMID: 22876312 DOI: 10.1371/journal.pone.0042281]
11 Kamangar F, Chow WH, Abnet CC, Dawsey SM. Environmental causes of esophageal cancer. *Gastroenterol Clin North Am* 2009; 38: 27-57, vii [PMID: 19327566 DOI: 10.1016/j.gtc.2009.01.004]
12 陈卫刚, 杨春梅, 刘晓燕, 徐丽红, 张宁, 马云贵, 霍小玲, 韩玉胜, 田德安, 郑勇. 通用引物巢式PCR法对哈萨克族食管鳞癌HPV感染的检测. 世界华人消化杂志 2012; 20: 1049-1053
13 Guo F, Liu Y, Wang X, He Z, Weiss NS, Madeleine MM, Liu F, Tian X, Song Y, Pan Y, Ning T, Yang H, Shi X, Lu C, Cai H, Ke Y. Human papillomavirus infection and esophageal squamous cell carcinoma: a case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2012; 21: 780-785 [PMID: 22337534 DOI: 10.1158/1055-9965]

14 Choi IS, Jang JY, Cho WY, Lee TH, Kim HG, Lee BY, Jeong SW, Cho JY, Lee JS, Jin SY. Usefulness of magnifying endoscopy for iodine-unstained lesions in a high-risk esophageal cancer population. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 4709-4715 [PMID: 20872973 DOI: 10.3748/wjg.v16.i37.4709]
15 Stašek M, Tozzi di Angelo I, Aujeský R, Vomáčková K, Vrba R, Neoral C. [Endosonography of the oesophagus in the diagnosis and treatment of oesophageal tumours]. *Rozhl Chir* 2012; 91: 357-361 [PMID: 23078252]
16 Hancock SM, Gopal DV, Frick TJ, Pfau PR. Dilation of malignant strictures in endoscopic ultrasound staging of esophageal cancer and metastatic spread of disease. *Diagn Ther Endosc* 2011; 2011: 356538 [PMID: 22203779 DOI: 10.1155/2011/356538]

编辑 田滢 电编 闫晋利

■同行评价
本文详细总结了近十年新疆伊犁哈萨克族自治州食管癌的发病特点, 对如何干预和防治哈萨克族食管癌的发生、早期普查和早期诊断提供了理论依据和基础, 对当地食管癌的防治有一定的参考价值.

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

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873

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

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

世界华人消化杂志 2013年4月8日; 21(10): 904-907
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

年龄与胃食管反流病的关系

裴艳香, 尚占民, 郝建宇

■背景资料
胃食管反流病是常见的食管动力性疾病, 除引起典型的食管症状, 还可以引起多种食管外症状. 该病可以累及各个年龄组, 不同年龄组的患者有不同的临床表现及动力学特征.

裴艳香, 尚占民, 郝建宇, 首都医科大学附属北京朝阳医院消化内科 北京市 100020
裴艳香, 主治医师, 主要从事消化系动力疾病的诊治与研究.
作者贡献分布: 裴艳香与尚占民对此文贡献均等; 此课题由裴艳香与尚占民设计; 研究过程由裴艳香与尚占民操作完成; 材料整理、数据分析及文章起草由裴艳香完成; 文章修改与审阅由裴艳香、尚占民及郝建宇完成.
通讯作者: 尚占民, 教授, 主任医师, 100020, 北京市朝阳区工体南路8号, 首都医科大学附属北京朝阳医院消化内科.
shangzhanmin@sohu.com
收稿日期: 2013-02-03 修回日期: 2013-02-24
接受日期: 2013-03-14 在线出版日期: 2013-04-08

Relationship between age and gastroesophageal reflux disease

Yan-Xiang Pei, Zhan-Min Shang, Jian-Yu Hao

Yan-Xiang Pei, Zhan-Min Shang, Jian-Yu Hao, Department of Gastroenterology, Beijing Chaoyang Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100020, China
Correspondence to: Zhan-Min Shang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Beijing Chaoyang Hospital Affiliated to Capital Medical University, 8 Gongti South Road, Chaoyang District, Beijing 100020, China. shangzhanmin@sohu.com
Received: 2013-02-03 Revised: 2013-02-24
Accepted: 2013-03-14 Published online: 2013-04-08

Abstract

AIM: To investigate the characteristics of gastroesophageal reflux disease among patients of different age groups.

METHODS: A total of 220 patients (aged 18-81 years) were enrolled and divided into three groups based on their age (< 40, 40-59, and ≥ 60). Standard esophageal manometry and 24 h pH monitoring were performed in all subjects, and most patients underwent gastroenterology. The results were compared among different groups of patients.

RESULTS: The incidence of esophagitis (grade LA-B to LA-D) increased with age, showing a significant difference between the young group and the elderly group (7.1% *vs* 36.5%, $P = 0.005$). The DeMeester score was significantly higher in the elderly group than in the other groups (41.99 ± 26.52 *vs* 31.08 ± 26.86; 29.69 ± 17.63, $P = 0.038$, 0.000). The percent supine time pH < 4 and acid clearance time in upright position differed significantly between the elderly group and the adult group ($P = 0.004$, 0.005). The mean wave amplitude decreased gradually and the percentage of non-peristaltic contractions increased gradually with the increase in age, but the differences were not statistically significant (both $P > 0.05$). The difference in the resting lower esophageal sphincter pressure was statistically significant between the elderly group and the young group (12.79 ± 6.20 *vs* 16.88 ± 8.86, $P = 0.007$).

CONCLUSION: With the increase in age, esophageal motility dysfunction becomes more serious, acid exposure time becomes longer, and the incidence of esophagitis (grade LA-B to LA-D) becomes higher.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Gastroesophageal reflux; Esophagitis; Endoscopy; Esophageal pH monitoring

Pei YX, Shang ZM, Hao JY. Relationship between age and gastroesophageal reflux disease. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(10): 904-907 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/904.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i10.904

摘要

目的: 分析不同年龄组胃食管反流病患者的临床特点及24 h pH监测、食管测压的特点.

方法: 回顾性分析北京朝阳医院2005-2010年220例胃食管反流病患者的临床资料及24 h pH监测、食管测压的资料.

结果: (1)随年龄增长, 内镜下LA-B至LA-D级食管炎比例逐渐增加, 并且青年组与老年组间的差异有统计学意义(7.1% *vs* 36.5%, $P = 0.005$); (2)随年龄增长, 老年组DeMeester积分明显高于青、中年组, 差异有统计学意义(41.99±26.52 *vs* 31.08±26.86; 29.69±17.63, $P = 0.038$; 0.000). 老年组pH<4的卧位时间百

■同行评议者
潘秀珍, 教授, 主任医师, 福建省立医院消化科

分比及立位酸清除时间百分比均明显高于中年组, 差异有统计学意义(P = 0.004; 0.005); (3)随年龄增长, 食管中下段蠕动波幅逐渐下降, 非传导性收缩百分比逐渐增加, 但差异无统计学意义. 老年组与青年组相比, 下食管括约肌压力明显降低, 差异有统计学意义(12.79±6.20 *vs* 16.88±8.86, P = 0.007).

结论: 随年龄增长, 食管动力障碍逐渐加重, 食管酸暴露时间逐渐延长, 中重度食管炎发生率逐渐增加.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 胃食管反流病; 食管炎; 内窥镜检查; 食管pH监测

核心提示: 本文对220例胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease)患者进行了全面分析. 结果发现随年龄增长, 食管动力障碍逐渐加重, 导致食管抗反流屏障及酸清除作用逐渐下降. 因此, 食管酸暴露时间延长, 食管炎程度逐渐加重.

裴艳香, 尚占民, 郝建宇. 年龄与胃食管反流病的关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(10): 904-907 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/904.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i10.904

0 引言

胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)是指胃十二指肠内容物反流入食管引起的不适症状和/或并发症的一种疾病. GERD是一种常见病, 在西欧和北美的发病率为10%-20%[1], 在北京、上海两地的患病率为5.77%[2]. 且近年的流行病学调查显示有上升趋势[3-5]. 胃食管反流病可累及各个年龄组, 对于不同年龄组的GERD患者的临床特点、24 h pH监测及食管动力学是否存在差异尚缺乏相关资料. 本研究旨在分析年龄对GERD患者的症状、24 h pH监测及食管动力学的影响.

1 材料和方法

1.1 材料 选取北京朝阳医院GERD门诊2005-2010年就诊的GERD患者. 所有患者均由专职医生填写问卷调查表, 并根据就诊主要症状进行分类, 包括典型反流症状[如烧心和反流(酸)]和不典型反流症状(指其他消化系症状及耳鼻咽喉、呼吸道等食管外症状). 所有入选患者均完成胃镜、24 h食管动态pH监测及食管测压检查. 如有食管外症状, 需相关科室行系统检查后除外其他系统疾病方可入组. 以24 h动态pH监测结果反流指数(DeMeester评分)≥14.72或内镜下有食管炎(erosive esophagitis, EE)作为入选GERD组标准. 入选者根据年龄分组: 18-39岁为青年组, 40-59岁为中年组, ≥60岁为老年组.

1.2 方法

1.2.1 排除标准: (1)有上消化道手术史的患者; (2)有上消化道其他器质性疾病如溃疡病、幽门梗阻、胃癌等的患者; (3)其他系统性疾病累及消化道者如糖尿病、自身免疫病等; (4)妊娠或其他原因所致的剧烈呕吐; (5)严重的心、肺功能不全患者不能耐受上述检查者.

1.2.2 胃镜及上消化道钡餐造影检查: 均采用标准方法进行, 胃镜采用奥林巴斯XQ-260, 如发现食管炎采用洛杉矶分级标准. 洛杉矶标准A级: 食管黏膜破损局限于黏膜皱襞上, 且长度<5 mm; B级: 食管黏膜破损局限于黏膜皱襞上, 其中至少1处>5 mm且相互不融合; C级:食管黏膜至少1处有2条破损且相互融合, 但少于食管周径的75%; D级: 食管黏膜破损融合成全周, 至少侵犯食管周径的75%以上.

1.2.3 食管压力测定: 患者禁食一夜, 应用荷兰MMS多功能胃肠动力测定仪测定食管中下段(即距离LES上3-8 cm处)的蠕动波幅(mean wave amplitude, MWA)、蠕动时限(mean wave duration, MWD)、下食管括约肌压力(lower esophageal sphincter pressure, LESP)及非传导性收缩(包括同步收缩和传导脱落及逆向收缩)比例.

1.2.4 24 h食管动态pH监测: 所有患者均应用荷兰MMS公司产便携式pH监测仪进行24 h动态pH监测, 将玻璃电极经鼻插入食管, 定位于LES上5 cm处. 患者记录生活日记, 包括三餐、卧位及立位时间. 所得数据经计算机软件进行处理.

统计学处理 应用SPSS11.5统计软件进行数据处理. 计数资料用例数或百分数表示, 计数资料比较采用的χ^2检验. 正态分布的计量资料以mean±SD表示, 组间比较采用方差分析和SNK检验; 非正态分布的计量资料以中位数(P25, P75)表示, 组间比较采用非参数秩和检验. P<0.05认为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 临床特点 共入组220例患者, 其中男123例, 女97例, 年龄26-81岁, 平均年龄56.19岁±13.36岁, 各年龄组性别构成、体质量指数、吸烟及

■研发前沿
胃食管反流病患者的症状与多种因素有关, 如年龄、体质量指数、吸烟及食管裂孔疝等. 寻找不同年龄组的胃食管反流病患者的临床表现及动力学特征的规律, 为不同患者提供个体化治疗方案提供理论依据.

■相关报道
胃镜检查及食管测压、24 h pH监测是诊断胃食管反流病的常用方法. 相关研究结果显示: 糜烂性食管炎的发生率及严重程度随年龄增长而增加.

■创新盘点
本文通过对大量完整的病例资料进行分析发现: 随年龄增长, 食管动力障碍逐渐加重, 食管酸反流程度逐渐加重, 胃镜下食管炎程度也随之逐渐加重. 此结论为临床工作中个体化治疗提供了理论依据.

表 1 各年龄组临床资料比较 *n*(%)

分组	男	女	典型反流症状	不典型反流症状
青年组	17(70.83)	7(19.17)	20(83.33)	4(16.67)
中年组	54(51.43)	51(48.57)	68(64.76)	37(35.24)
老年组	52(57.14)	39(42.86)	58(63.73)	33(36.27)

表 2 各年龄组胃镜结果比较 *n*(%)

分组	无食管炎	食管炎A级	食管炎B级	食管炎C级	食管炎D级
青年组	10(41.67)	13(54.17)	1(4.16)	0(0)	0(0)
中年组	55(52.38)	34(32.38)	11(10.48)	4(3.81)	1(0.95)
老年组	40(43.96)	26(28.57)	17(18.68)	6(6.59)	2(2.20)

表 3 各组间24 h食管动态pH监测结果比较

分组	%TTU pH<4	%TTS pH<4	DeMeester积分	立位酸清除时间%	卧位酸清除时间%
青年组	10.45(5.90,14.95)	4.45(1.73,10.20)	31.08 ± 26.86[a]	1.90(1.15, 2.43)	4.40(1.78, 8.13)
中年组	8.70(4.60,13.50)	6.00(1.50,10.00)[c]	29.69 ± 17.63[c]	1.80(1.20, 3.00)[c]	3.30(1.40,7.80)
老年组	9.80(6.10, 20.90)	8.80(3.80,15.80)	41.99 ± 26.52	2.30(1.70, 3.30)	3.90(2.30, 8.60)

[a]*P*<0.05 *vs* 老年组; [c]*P*<0.05 *vs* 老年组.

表 4 各组间食管动力学比较

分组	LESP(mmHg)	MWA(mmHg)	非传导性收(%)
青年组	16.88 ± 8.86[a]	54.22 ± 28.86	0.00(0.00, 0.00)
中年组	14.55 ± 6.17	53.30 ± 23.72	0.00(0.00, 8.00)
老年组	12.79 ± 6.20	49.34 ± 26.92	0.00(0.00, 10.00)

[a]*P*<0.05 *vs* 老年组. LESP: 下食管括约肌压力; MWA: 蠕动波幅.

饮酒率等无显著性差异. 220例入组患者中以典型反流症状为主诉的152例, 以不典型反流症状为主诉的68例. 随年龄增长, 不典型反流症状患者比例逐渐增加, 但组间差异无显著性意义(表1).

2.2 胃镜结果比较 镜下有RE者共115例. 各个年龄组相比较, 内镜下RE的发生率无显著性差异;随年龄增长, 各组间内镜下LA-B级及以上食管炎发生率逐渐升高, 差异有统计学意义(P = 0.011), 并且老年组与青年组间存在显著性差异(P = 0.005, 表2).

2.3 食管24 h pH监测结果 各组间比较, 青中年组各项指标无显著性差异; 老年组DeMeester积分明显高于青年组, 差异有统计学意义(P = 0.038). 老年组与中年组相比, 卧位酸反流时间百分比(%TTS pH<4)、立位酸清除时间百分比及DeMeester积分均明显升高, 差异有统计学意义(P = 0.004、0.005、0.000, 表3).

2.4 各组间食管动力学结果比较 随年龄增长, 下食管括约肌压力随年龄逐渐下降, 食管中下段蠕动波幅逐渐降低, 非传导性收缩百分比逐渐增加. 老年组LESP明显低于青年组, 差异有统计学意义(P = 0.007). 其余各项指标在各组间差异无统计学意义(表4).

■应用要点
对胃食管反流病患者进行治疗时应根据年龄进行个体化治疗, 必要时完善动力学检查. 此结论对临床工作有指导意义, 值得推广应用.

3 讨论

胃食管反流病是指胃十二指肠内容物反流入食管引起烧心等症状, 可引起烧心反流胸痛等症状, 也可引起咽喉、气道、耳鼻等食管以外的组织损伤. 胃食管反流病在西方国家十分常

见, 人群中约7%-15%有胃食管反流病的症状. 北京、上海两地的调查发现GERD的患病率为5.77%, 40-60岁为高峰发病年龄, 男女发病无差异. 本研究发现男性患者稍多于女性患者, 发病高峰年龄为40-60岁, 与以往的报告类似. 本研究中发现大部分GERD患者以食管典型反流症状为主诉就诊, 以不典型症状为主诉就诊者比例较少, 两者比例约为2.24∶1. 究其原因, 可能与医生对不典型反流症状认识不足有关, 应加强学科间合作, 提高对本病的认知, 以减少漏诊及误诊.

目前认为胃食管反流病是由多种因素造成的消化道动力障碍性疾病, 主要的发病机制是抗反流防御机制减弱和反流物对食管黏膜攻击作用的结果. 以前的研究曾发现糜烂性食管炎的发生率和严重程度随年龄增长而增加[6-8], 考虑可能与老年人唾液中重碳酸盐分泌减少和食管中酸灌注增加有关[9]. 国外也有学者认为反流性食管炎严重程度和LESP密切相关[10]. 国内研究发现LESP及食管体部蠕动收缩波幅在不同年龄组的健康志愿者间无显著性差异[11]. 对于GERD患者的研究, 国内学者发现随着年龄增长, 老年人食管动力障碍程度加重[12,13], 但对于GERD患者的LESP随年龄的变化, 国内外研究结果不尽相同. 本研究发现随着年龄增长, 食管病变严重程度逐渐加重, 与Pilotto等[14]报道类似. 究其原因考虑与老年组LESP、MVA明显降低, 非传导性收缩比例明显升高所致的食管抗反流屏障及酸清除作用下降, 酸清除时间延长, 食管黏膜的酸暴露时间延长有关. 本研究中不同年龄组的食管动力学检查及24 h pH监测结果也证实了这种观点. 与气液压毛细灌注检测系统相比, 高分辨食管测压技术更准确、直观. 我们已经开展此方面的工作, 看是否会得出与传统的气液压毛细灌注检测方法类似的结论.

在临床工作中, 常常发现有的患者症状不典型, 且主诉与内镜下改变不平行[15], 所以建议在治疗效果不佳时应积极完善内镜及食管动力学、24 h pH监测等检查[16]. 在临床治疗GERD患者过程中, 常常发现有的患者尤其是老年人症状缓解慢, 治疗所需时间较长, 甚至需长期药物维持治疗, 究其原因可能与其食管动力障碍所致酸反流较重及酸清除时间延长有关. 临床治疗时是否应根据年龄及动力学特点采用不同的治疗方案, 目前尚缺乏此方面的资料, 因此我们将在以后的工作中进一步总结以指导治疗.

4 参考文献

1 Dent J, El-Serag HB, Wallander MA, Johansson S. Epidemiology of gastro-oesophageal reflux disease: a systematic review. *Gut* 2005; 54: 710-717 [PMID: 15831922]
2 潘国宗, 许国铭, 郭慧平, 柯美云, 韩少梅, 李兆申, 方秀才, 邹多武, 鲁素彩, 刘婧. 北京上海胃食管反流症状的流行病学调查. 中华消化杂志 1999; 19: 223-226
3 Lim SL, Goh WT, Lee JM, Ng TP, Ho KY. Changing prevalence of gastroesophageal reflux with changing time: longitudinal study in an Asian population. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20: 995-1001 [PMID: 15955205]
4 张军汉, 周黎黎, 杨晓燕, 肖翠兰, 迟雪梅, 原旭华, 张晖. 克拉玛依市区胃食管反流症状流行病学调查及防治. 世界华人消化杂志 2005; 13: 1621-1624
5 朱键, 周力, 王岚, 吕锐, 郑州云. 贵州省安顺地区人群胃食管反流病流行病学调查. 世界华人消化杂志 2009; 17: 2087-2090
6 李兆申, 王雯, 许国铭, 于凤海, 邹多武, 孙振兴. 反流性食管炎1827例临床分析. 中华内科杂志 2001; 40: 9-12
7 高建萍, 王虹, 顾清, 周磊, 张悦. 胃食管反流病患者的临床分析. 中华消化杂志 2006; 26: 350-351.
8 郝坤艳, 林琳, 李学良, 姜柳琴, 司新敏, 王美峰, 王一琳. 老年胃食管反流病患者临床特征分析. 中华消化杂志 2010; 30: 382-385
9 王虹, 刘宾, 姜佳丽. 老年人胃食管反流病的临床特点. 中国医学科学院学报 2002; 24: 178-180
10 Allen ML, McIntosh DL, Robinson MG. Healing or amelioration of esophagitis does not result in increased lower esophageal sphincter or esophageal contractile pressure. *Am J Gastroenterol* 1990; 85: 1331-1334 [PMID: 2220724]
11 王智凤, 孙晓红, 宋志强, 赵煜, 柯美云, 朱有玲, 王学琴, 罗金燕, 谢小平, 侯晓华, 邹多武. 健康人食管测压及影响因素多中心研究. 中华消化杂志 2012; 32: 14-18
12 丁元伟. 老年健康人及反流性食管炎患者食管运动功能的测定. 中华老年医学杂志 1999; 18: 30-31
13 李海霞, 谢小平, 侯晓华. 不同年龄健康志愿者与胃食管反流病患者食管动力学的差异. 中华消化杂志 2008; 28: 85-87
14 Pilotto A, Franceschi M, Leandro G, Scarcelli C, D'Ambrosio LP, Seripa D, Perri F, Niro V, Paris F, Andriulli A, Di Mario F. Clinical features of reflux esophagitis in older people: a study of 840 consecutive patients. *J Am Geriatr Soc* 2006; 54: 1537-1542 [PMID: 17038071]
15 Johnson DA, Fennerty MB. Heartburn severity underestimates erosive esophagitis severity in elderly patients with gastroesophageal reflux disease. *Gastroenterology* 2004; 126: 660-664 [PMID: 14988819 DOI: 10.1053/j.gastro.2003.12.001]
16 梁小燕, 高青. 胃食管反流病的食管外表现及其临床进展. 世界华人消化杂志 2006; 14: 3387-3390

■名词解释
胃食管反流病(GERD): 胃十二指肠内容物反流入食管引起的不适症状和/或并发症的一种疾病, 根据内镜检查结果可分为非糜烂性反流病、反流性食管炎及Barrett食管.

■同行评价
本文对胃食管反流病患者的相关资料进行分析, 探讨了年龄对内镜分级、食管动力障碍及酸反流情况的影响, 对临床诊治有一定参考意义.

编辑 田滢 电编 闫晋利

世界华人消化杂志 2013年4月8日; 21(10): 908-914
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

组织黏合剂治疗胃底静脉曲张术后再出血的相关因素

田念念, 向慧玲, 吕洪敏, 王 芳, 聂新华

■背景资料
胃底静脉曲张破裂出血(GVB)是肝硬化患者上消化道出血的重要原因, 组织黏合剂注射治疗已被国内外公认为首选的治疗方法, 具有疗效确切, 并发症少的特点, 但其术后仍有较高的再出血率. 因此, 研究影响其术后再出血的危险因素, 进一步指导临床治疗是有必要的.

田念念, 聂新华, 天津医科大学第三中心临床学院 天津市 300170
向慧玲, 吕洪敏, 王芳, 天津市第三中心医院消化内科 天津市 300170
田念念, 在读硕士, 主要从事肝脏相关疾病的研究.
作者贡献分布: 田念念与向慧玲对此文所作贡献均等; 此课题的设计由向慧玲与吕洪敏完成; 病例采集由田念念与聂新华完成; 数据分析及文章起草由田念念完成; 文章修改与审阅由向慧玲、吕洪敏及王芳完成.
通讯作者: 向慧玲, 教授, 主任医师, 300170, 天津市河东区津塘路83号, 天津市第三中心医院消化内科. huilingxiang@163.com
电话: 022-84112310 传真: 022-24382234
收稿日期: 2013-01-19 修回日期: 2013-03-04
接受日期: 2013-03-14 在线出版日期: 2013-04-08

Factors affecting re-bleeding after injection of cyanoacrylate for gastric varices

Nian-Nian Tian, Hui-Ling Xiang, Hong-Min Lv, Fang Wang, Xin-Hua Nie

Nian-Nian Tian, Xin-Hua Nie, the Third Central Clinical College of Tianjin Medical University, Tianjin 300170, China
Hui-Ling Xiang, Hong-Min Lv, Fang Wang, Department of Gastroenterology, the Third Central Hospital of Tianjin, Tianjin 300170, China
Correspondence to: Hui-Ling Xiang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Third Central Hospital of Tianjin, 83 Jintang Road, Hedong District, Tianjin 300170, China. huilingxiang@163.com
Received: 2013-01-19 Revised: 2013-03-04
Accepted: 2013-03-14 Published online: 2013-04-08

Abstract

AIM: To investigate the rate of re-bleeding after injection of cyanoacrylate for gastric varices in patients with large gastric varices and to identify probable risk factors for re-bleeding.

METHODS: A retrospective analysis was carried out in 52 cirrhotic patients who had large gastric varices and underwent endoscopic cyanoacrylate injection at our hospital from June 2010 to April 2012. To identify probable risk factors for re-bleeding after injection of cyanoacrylate for gastric varices, various factors were collected and analyzed, including gender, age, types of cirrhosis, coexistent hepatocellular carcinoma, Child-Pugh classification, presence of ascites, portal vein thrombosis, diameter of portal vein and spleen vein, spleen length, spleen thickness, routine blood tests, liver function tests, renal function tests, coagulation function tests, fasting blood sugar, α fetal protein, Child score, MELD score, and endoscopic variceal characteristics.

RESULTS: Recurrent bleeding occurred in 18 patients (34.62%) after initial cyanoacrylate injection, and the mean re-bleeding time was 5.5 mo ± 4.9 mo. Logistic regression analysis revealed that Child-Pugh classification, gamma-glutamyl transpeptidase (GGT) and spleen length were probable risk factors for recurrent bleeding after cyanoacrylate injection (P = 0.036, 0.009, 0.033; OR = 15.262, 47.684, 38.249; 95%CI: 1.197-194.573, 2.604-873.328, 1.339-1 092.543). The areas under ROC curve of GGT and spleen length in the diagnosis of re-bleeding were 0.773 and 0.704, with sensitivities of 66.7% and 93.8% and specificities of 85.7% and 52.6%.

CONCLUSION: Recurrent bleeding after injection of cyanoacrylate for gastric varices is affected by Child-Pugh B or C, GGT and spleen length.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Gastric varices injection of cyanoacrylate; Re-bleeding; Risk factors

Tian NN, Xiang HL, Lv HM, Wang F, Nie XH. Factors affecting re-bleeding after injection of cyanoacrylate for gastric varices. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(10): 908-914 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/908.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i10.908

摘要

目的: 分析内镜下胃底组织黏合剂注射治疗(gastric varices injection, GVI)术后胃底静脉曲张再出血的发生率及与肝硬化疾病相关的影响其再出血的危险因素.

方法: 回顾性分析我院2010-06/2012-04因肝硬化伴重度胃底静脉曲张住院并行首次胃底组织黏合剂治疗的患者52例. 记录其性别、年龄、肝硬化原因、是否合并肝癌、Child

■同行评议者
陈海龙, 教授, 大连医科大学附属第一医院院办

分级、腹水、门静脉栓塞、门静脉直径、脾静脉直径、脾脏厚度、脾脏长径、血常规、肝肾功能、凝血功能、空腹血糖(fasting blood sugar, FBs)、甲胎蛋白(alpha-fetal Protein, AFP)、Child评分、MELD评分以及内镜下静脉曲张情况等指标. 寻找其与肝硬化疾病相关的影响首次GVI术后胃底静脉曲张破裂出血(gastric variceal bleeding, GVB)可能的危险因素.

结果: 首次GVI术后胃底静脉曲张破裂再出血率34.6%, 平均再出血时间为5.5 mo±4.9 mo. Logistic回归分析表明, Child-Pugh B/C级、γ-谷氨酰转肽酶(gamma-glutamyl transpeptidase, GGT)、脾脏长径是与肝硬化疾病相关的影响GVI术后GVB的危险因素, *P*值分别为0.036、0.009、0.033, *OR*值分别为15.262、47.684、38.249, 95%CI分别为1.197-194.573、2.604-873.328、1.339-1 092.543. GGT、脾脏长径的ROC曲线下面积分别为0.773、0.704, 敏感度分别为66.7%、93.8%, 特异度分别为85.7%和52.6%.

结论: Child-Pugh B/C、GGT及脾脏长径是与肝硬化相关的影响GVI术后胃底静脉曲张再出血的危险因素.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 胃底组织黏合剂注射治疗; 再出血; 危险因素

核心提示: Child-Pugh B/C级、γ-谷氨酰转肽酶(gamma-glutamyl transpeptidase)>60.5 U/L、脾脏长径>13.25 cm是组织黏合剂注射治疗术后与肝硬化疾病相关的影响胃底静脉曲张再出血的危险因素.

田念念, 向慧玲, 吕洪敏, 王芳, 聂新华. 组织黏合剂治疗胃底静脉曲张术后再出血的相关因素. 世界华人消化杂志 2013; 21(10): 908-914 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/908.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i10.908

0 引言

胃底静脉曲张破裂出血(gastric variceal bleeding, GVB)是肝硬化门脉高压患者较为常见的并发症. 18%-70%的门脉高压患者会发生胃底静脉曲张. 其中, 10%-36%的胃底静脉曲张患者会发生破裂出血[1]. 虽然GVB较食道静脉曲张破裂出血发生率低, 但其一旦发生出血, 病情更凶险, 如治疗不及时, 可因急性大出血发生休克而致生命危险, 死亡率高达45%-55%[2]. 在急性出血控制后, 仍有较高的再出血率. 内镜下组织黏合剂注射已被公认为治疗胃底静脉曲张出血的首选方法, 内镜诊疗规范推荐的胃底静脉曲张组织黏合剂注射治疗一般进行一次, 在疗效不满意时可以重复治疗[3]. 但影响其首次疗效的危险因素还有待进一步研究. 现对我院2010-06/2012-04 52例行胃底组织黏合剂治疗的肝硬化患者的资料进行回顾性分析, 报道如下.

■研发前沿
目前, 对于胃底静脉曲张再出血的危险因素的研究主要集中在肝静脉压力梯度、胃底曲张静脉直径大小以及是否合并红色征等方面, 本文旨在通过血液学、影像学等无创性检查, 探索其与肝硬化疾病相关的危险因素.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2010-06/2012-04我院肝内科住院的肝硬化伴重度胃底静脉曲张并行内镜下组织黏合剂治疗的患者52例. 病例入选标准: 所有患者据病史、体征、实验室检查、B超、CT或肝穿刺活检证实为肝硬化, 内镜证实伴有重度胃底静脉曲张, 并行首次胃底组织黏合剂注射治疗(gastric varices injection, GVI). 排除标准: (1)内镜下仅有食道静脉曲张者; (2)胃底组织黏合剂注射联合套扎或硬化剂注射治疗者; (3)仅行内镜下胃底套扎或硬化剂注射治疗者.

1.2 方法

1.2.1 研究指标: 查阅病历, 记录52例患者的性别、年龄、肝硬化原因、合并症(原发性肝癌HCC)、Child分级、有无腹水、门静脉血栓、门静脉直径、脾静脉直径、脾脏厚度、脾脏长径、血常规、肝肾功能、凝血功能、空腹血糖、甲胎蛋白AFP、Child评分、MELD评分以及内镜下静脉曲张情况.

1.2.2 再出血的判断: 再出血: 组织黏合剂注射治疗后72 h至静脉曲张消失前发生出血或静脉曲张消失后再发出血. 再次出血的征象: 出血控制后再次有活动性出血的表现(呕血或黑便; 收缩压降低>20 mmHg或心率增加>20次/min; 在没有输血的情况下血红蛋白含量下降>30 g/L)[3].

1.2.3 再出血原因的判断: 排胶出血: 急性出血控制后复查胃镜, 可见原注射部位排胶改变或排胶部位残留鲜血、咖啡样液体或血痂. 胃底静脉曲张再出血: (1)首次GVI术后到胃底静脉曲张消失前再出血, 出血控制后复查胃镜, 可见胃底静脉曲张仍然存在, RC(+)或胃底残留鲜血或咖啡样液体, 但无明显排胶改变; (2)胃底静脉曲张消失后再次出血, 复查胃镜可见胃底静脉曲张再次出现.

1.2.4 分组: 胃底静脉曲张再出血组: GVI术后胃底静脉曲张再出血. 未出血组: GVI术后随访期间均未发生排胶出血和胃底静脉曲张再出血.

■相关报道
Hayashi等研究表明, 脾脏体积是预测门脉高压存在的敏感指标. 在门静脉压力为250 mm H_2O时, ROC的曲线下面积为0.926, 具有较可靠的诊断意义.

统计学处理 单因素分析: 符合正态分布的计量资料, 变量值用mean±SD表示, 两组间比较采用独立样本*t*检验; 不符合正态分布的计量资料, 变量值用四分位数表示, 两组间比较采用Mann-Whitney检验; 计数资料分析采用χ^2检验或Fisher确切概率法. 多因素分析: 对单因素分析有意义的计量资料, 利用ROC曲线计算Cut-off值, 依据Cut-off值赋值, 进行向前逐步Logistic回归分析, 并计算各危险因素的*OR*值和*OR*值的95%CI. 用敏感度、特异度和ROC曲线下面积评价指标价值, 一般认为ROC曲线下面积(area under the curve, AUC)>0.7时即有临床价值. 所有数据采用SPSS17.0统计软件进行分析, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 患者的临床特征 52例患者中男37例, 女15例, 年龄28-82岁, 平均年龄57.31岁±11.42岁. 病毒性肝硬化28例, 酒精性肝硬化8例, 原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)5例, 其他原因肝硬化11例. 随访时间3-22 mo, 平均随访时间15.3 mo±11.4 mo. 有24例患者出现术后出血, 其中排胶出血6例, 平均时间为1.5 mo±0.8 mo; 胃底静脉曲张再出血18例, 平均时间为5.5 mo±4.9 mo, 未出血患者28例.

2.2 两组患者单因素分析 胃底静脉曲张再出血组与未出血组患者一般情况比较(表1). 经单因素分析, 肝硬化原因(P = 0.004)、Child分级(P = 0.038)、γ-谷氨酰转肽酶(gamma-glutamyl transpeptidase, GGT)(P = 0.022)、脾脏长径(P = 0.030), 各组间差别均有统计学意义.

2.3 连续型变量指标ROC曲线相关结果 选取两组间有统计学意义的连续性变量指标, 绘制ROC曲线(图1), 得出相应AUC, 以最靠近左上角的点(敏感性与特异性之和最大)作为最适临界点, 即Cut-off值(表2).

2.4 多因素分析 为排除混杂因素影响, 据Cut-off值对上述指标赋值(表3), 采用逐步向前Logistic回归分析, 寻找GVI术后与肝硬化疾病相关的影响胃底静脉曲张破裂再出血的可能危险因素, 有意义的危险因素(表4).

3 讨论

胃底静脉曲张是肝硬化门脉高压患者上消化道出血的重要原因. 虽然较食道静脉曲张破裂出血少见, 但是GVB病情凶险、治疗困难、具有较高的复发出血率和死亡率. 目前, GVB的治疗手段有药物治疗、三腔二囊管压迫止血、内镜治疗(组织黏合剂治疗、凝血酶治疗、硬化剂治疗、套扎)、经颈静脉肝内门体分流术(transjugular intrahepatic portosystemic shunt, TIPS)、经静脉逆行球囊闭塞术(balloon-occluded retrograde transvenous obliteration, BRTO)、胃冠状静脉栓塞术(percutaneous transhepatic variceal embolization, PTVE)、脾动脉栓塞术及外科手术治疗. 与其他治疗方法相比, 内镜治疗具有操作简便、并发症少的优点而广泛应用于临床. 美国肝脏研究学会、美国消化内镜协会、欧洲肝脏研究协会都推荐组织黏合剂注射治疗作为胃底静脉曲张出血的一线治疗方法[4-6].

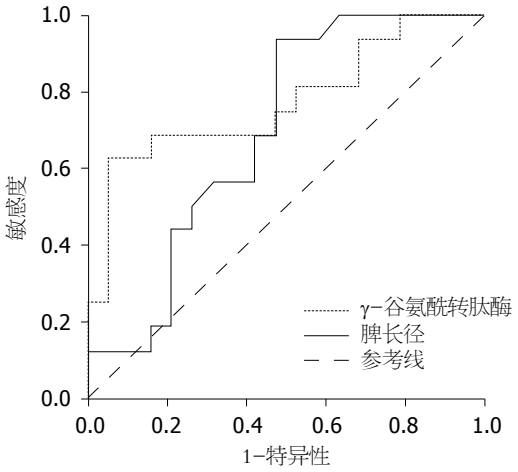


图 1 连续性变量的ROC曲线.

目前常用的组织黏合剂是氰基丙烯酸盐, 注射到血管里接触到血液时会在数秒内发生聚合反应, 形成固体, 并在固体的黏合剂外面形成一层膜, 使黏合剂与血管完全隔离开, 从而闭塞血管[7]. 自1986年德国的Soehendra等报道组织黏合剂治疗胃底静脉曲张以来, 国内外研究均证实组织黏合剂注射治疗胃底静脉曲张出血是一种有效的、较为安全的方法[8,9]. 但其术后复发出血一直是临床医生关注的问题. 固体黏合剂在血管最薄弱的地方, 穿破血管, 排入胃腔(俗称: 排胶). 已有研究表明, 86.1%的患者在术后1 mo内排胶, 排胶出血率为6.2%, 且排胶出血量一般不大[10]. 因此, 有必要对GVI术后胃底静脉曲张导致的再出血加以重视. 我们主要从肝硬化疾病的角度分析影响GVI术后胃底静脉曲张再出血的危险因素, 排胶出血未纳入本研究中.

组织黏合剂治疗术后胃底静脉曲张再出血率8%-37%[11,12]. 本研究中, GVI术后胃底静脉曲

表 1 组织黏合剂治疗术后胃底静脉曲张再出血组与未出血组的一般情况比较

指标	胃底静脉曲张再出血组	未出血组	*P*值
n	18	28	
性别			0.197
男(33)	15(15/18, 83.3%)	18(18/28, 64.3%)	
女(13)	3	10	
肝硬化			0.004
病毒性	6(6/18, 33.3%)[b]	19(19/28,67.9%)	
酒精性/PBC	9	2	
其他	3	7	
肝癌			0.688
是	2(2/18, 11.1%)	5(5/28, 17.9%)	
否	16	23	
Child评分			0.038
A	5(5/18 , 27.8%)[a]	17(17/28, 60.7%)	
B/C	13	11	
血栓			0.191
有	4(4/18, 22.2%)	2(2/28, 7.1%)	
无	14	26	
腹水			0.753
有	6(6/18, 33.3%)	8(8/28, 28.6%)	
无	12	20	
年龄(岁)	55.78 ± 9.245	58.64 ± 13.262	0.433
白细胞($\times 10^9$/L)	4.88(2.76, 7.08)	3.80(2.02, 6.68)	0.333
中性粒细胞比例(%)	68.99 ± 9.08	67.12 ± 11.43	0.943
血红蛋白(g/L)	84.72 ± 34.53	101.93 ± 29.55	0.198
血小板计数($\times 10^9$/L)	83.50(44.75, 100.50)	74.00(51.00, 109.50)	0.888
凝血酶原活动度(%)	58.67 ± 13.67	58.93 ± 12.65	0.456
国际标准化比值	1.43(1.32, 1.65)	1.49(1.27, 1.61)	0.678
白蛋白(g/L)	29.53 ± 5.68	32.11 ± 6.33	0.111
球蛋白(g/L)	26.30(22.25, 29.40)	24.15(23.33, 27.13)	0.249
丙氨酸氨基转移酶(U/L)	24.50(17.00, 27.50)	23(18.25, 31.50)	0.890
天冬氨酸氨基转移酶(U/L)	35.50(24.25, 56.00)	31.50(27.00, 51.75)	0.738
总胆红素(μmol/L)	24.60(12.78, 36.90)	21.90(13.65, 27.83)	0.254
直接胆红素(μmol/L)	13.95(7.25, 20.95)	10.05(6.13, 15.50)	0.140
碱性磷酸酶(U/L)	74.94 ± 31.99	75.11 ± 24.06	0.695
γ-谷氨酰转肽酶(U/L)	84.50(31.00, 127.50)[a]	37.00(21.25, 44.75)	0.022
空腹血糖(mmol/L)	6.46(5.62, 7.49)	6.07(4.95, 9.17)	0.596
甲胎蛋白(ng/mL)	6.06(5.11, 9.00)	7.16(4.51, 10.39)	0.612
血尿素氮(mmol/L)	6.25(4.41, 12.07)	6.06(4.33, 10.95)	0.773
血肌酐(μmol/L)	60.50(50.50, 74.00)	64.00(57.25, 74.75)	0.217
Child评分	7.50 ± 1.79	6.75 ± 1.60	0.157
MELD评分	9.17 ± 4.10	9.04 ± 4.71	0.579
门静脉直径(cm)	1.34 ± 0.18	1.31 ± 0.15	0.940
脾静脉直径(cm)	1.04 ± 0.35	1.02 ± 0.28	0.900
脾脏厚度(cm)	5.84 ± 1.17	5.34 ± 0.91	0.109
脾脏长径(cm)	15.60(13.50, 17.85)[a]	13.20(12.30, 15.40)	0.030

[a]*P*<0.05, [b]*P*<0.01 *vs* 未出血组.

■创新盘点

本研究通过血液学、影像学等无创性检查方法对术后患者随访, 发现Child分级、γ-谷氨酰转肽酶及脾脏长径可作为组织黏合剂治疗胃底静脉曲张患者的术后随访检测指标, 对预防再出血有一定的临床价值.

张破裂再出血患者18例, 再出血率34.6%, 与文献报道一致. 再出血的平均时间为5.5 mo±4.9 mo. 通过再出血组与未出血组单因素分析发现, Child B/C级、GGT、脾脏长径, 两组间差别有统计学意义, 且通过Logistic回归分析, 去除了混杂因素的影响. 而肝硬化原因、门静脉栓

■应用要点
本研究对组织黏合剂治疗胃底静脉曲张术后患者进行随访，发现无创性方法的某些检测指标也可对术后再出血的预测有一定临床价值.

表 2 连续型变量ROC曲线相关结果

指标	曲线下面积	Cut-off值	敏感性(%)	特异性(%)	阳性预测值(%)	阴性预测值(%)
γ-谷氨酰转肽酶	0.773	60.50 U/L	66.7	85.7	75.0	80.0
脾脏长径	0.704	13.25 cm	93.8	52.6	62.5	90.9

表 3 Logistic回归赋值说明

指标	变量名	赋值说明
肝硬化原因	X1	病毒性 = 1; 酒精性/PBC = 2; 其他 = 3
Child分级	X2	Child A级 = 1; Child B/C级 = 2
γ-谷氨酰转肽酶(U/L)	X3	≤60.5 U/L = 0; > 60.5 U/L = 1
脾脏长径(cm)	X4	≤13.25 cm = 0; >13.25 cm = 1
胃底静脉曲张破裂再出血	Y	GV再出血 = 1; 未出血 = 0

表 4 组织黏合剂治疗术后胃底静脉曲张再出血的危险因素

指标	回归系数(B)	回归系数标准误	Wald值	*P*值	Exp(B)	Exp(B)的95%CI
Child分级	2.725	1.299	4.404	0.036	15.262	(1.197, 194.573)
γ-谷氨酰转肽酶	3.865	1.484	6.786	0.009	47.684	(2.604, 873.328)
脾长径	3.644	1.710	4.540	0.033	38.249	(1.339, 1 092.543)

塞、合并肝癌、血小板计数、腹水等在本研究中未发现与GVI术后胃底静脉曲张再出血有必然联系.

美国肝病学会肝硬化食管胃底静脉曲张及出血诊治指南中指出，肝硬化伴胃食管静脉曲张与肝病的严重程度有关，Child C级患者85%并发静脉曲张. 失代偿期肝硬化(Child B/C级)为胃静脉曲张出血的高危因素之一[4]. Paik等[13]对110例胃底静脉曲张出血患者组织黏合剂治疗的研究发现，肝功能Child C级是GVI术后再出血的危险因素(*OR* = 7.4; 95%CI: 2.0-27.0). Wu等[14]研究GVI术后胃底静脉曲张再出血及生存率的Meta分析中发现，Child B/C级是影响胃底静脉曲张再出血的危险因素，*OR*值为2.72; 95%CI为1.53-4.84. 本研究显示，肝功能Child B、C级较Child A级更易复发出血，*OR*值15.262, 95%CI为(1.197, 194.573). 与文献报道一致. GVI术前、术后对患者肝功能进行合理评估、积极预防和治疗是有必要的，可能会降低术后胃底静脉曲张再出血率.

静脉曲张出血是肝硬化门脉高压直接引起的并发症. 脾大是门脉高压的重要体征. Hayashi等[15]研究表明，脾脏体积是预测门脉高压存在的敏感指标. 在门静脉压力为250 mm H_2O时，ROC的AUC为0.926，具有较可靠的诊断意义. Min等[16]研究表明，脾脏体积是预测胃底静脉曲张最有力的指标. 在本研究中，胃底静脉曲张破裂再出血组的脾脏长径大于未出血组的脾脏长径. 多元Logistic回归分析表明，脾脏长径是GVI术后胃底静脉曲张再出血的危险因素，*OR*值为38.249, 95%CI为1.339-1092.543，灵敏度为93.8%，特异度为52.6%，ROC的AUC为0.704，具有一定的临床价值. 对脾脏长径>13.25 cm的GVI术后患者，发生胃底静脉曲张破裂再出血的阳性预测值为62.5%，阴性预测值为90.9%，正确率为71.4%. 在临床上，可通过B超、CT测量脾脏长径、厚度等评价脾脏大小，且为非侵入性方法，简单易行. 因此，脾脏长径可能成为临床工作中预测GVI术后胃底静脉曲张再出血的一项监测指标.

GGT是一种含巯基的糖蛋白，与氨基酸转运和机体内解毒过程密切相关. 酒精可损伤肝细胞，使细胞膜上GGT释放入血引起血清GGT升高；还可通过诱导微粒体酶使GGT升高[17]. 另外，GGT的升高还与肝内胆汁淤积有关[18]. 2007年美国肝病学会肝硬化食管胃底静脉曲张及出血诊治指南中指出，胆汁性肝硬化患者静脉曲张及出血发生较早，甚至发生在肝硬化之前[4]. 本研

究提示, GGT是预测GVI术后胃底静脉曲张再出血的危险因素之一, 其*OR*值为47.684, 95%CI为2.604-873.328, 灵敏度为66.7%, 特异度为85.7%, ROC的AUC为0.773, 具有一定的可靠性. 经Logistic回归分析发现, 肝硬化原因不是GVI术后胃底静脉曲张破裂再出血的独立危险因素. 但是, 与酒精性肝硬化和原发性胆汁性肝硬化相关的指标GGT则是GVI术后再出血的独立危险因素. 对GGT>60.5 U/L的GVI术后患者, 发生胃底静脉曲张破裂再出血的阳性预测值为75%(12/16), 阴性预测值为80%(24/30), 正确率为78.3%(26/46). 因此, 在临床工作中, 对于GGT>60.5 U/L的酒精性或原发性胆汁性肝硬化患者, 应积极预防GVI术后再出血.

血清中的GGT主要来自肝Kupffer细胞和胆管, 在一些分化或致癌的病理生理条件下, 其活动水平会发生改变[19]. HCC时, 癌细胞的逆分化作用可诱导肝细胞生成GGT, 同时肝癌细胞也会合成GGT, 因而肝癌患者GGT异常升高[20]. GGT在原发性肝癌中表达水平增高, 阳性率为85.7%, 敏感性为90%[18]. 因此, GGT可能成为合并胃底静脉曲张的肝癌患者GVI术后胃底静脉曲张破裂再出血风险的预测指标. Paik等[13]研究表明, HCC是预测GVI术后再出血的危险因素, *OR*值为3.3, 95%CI为1.0-11.1. Chang等[21]研究表明, 合并HCC的胃底静脉曲张患者预后较差. GVB前后2 mo诊断的原发性肝癌患者, 5、30 d发生门脉高压相关再出血的比例分别为23.5%、76.0%. 黄丽芳等[19]研究表明, 高水平的GGT与原发性肝癌患者的门静脉栓塞相关. Wu等[14]研究表明, 晚期肝癌患者的门静脉栓塞是影响胃底静脉曲张复发出血的危险因素. 本研究中包括原发性肝癌患者7例, 门静脉栓塞患者6例. 研究发现, 原发性肝癌、门静脉栓塞不是影响GVI术后再出血的危险因素, 可能与样本量较小, 合并肝癌、门静脉栓塞的患者较少有关. 但是, 与HCC及HCC患者的门静脉栓塞相关的GGT则是GVI术后胃底静脉曲张破裂再出血的危险因素. 因此, 对肝硬化伴胃底静脉曲张患者进行有关HCC的详细检查、监测和随访是有必要的, 对合并胃底静脉曲张的HCC患者注意监测并控制GGT水平, 有可能会降低GVI术后胃底静脉曲张破裂再出血的发生率.

总之, Child-Pugh B/C级、GGT>60.5 U/L、脾脏长径>13.25 cm是与肝硬化疾病相关的影响组织黏合剂注射治疗术后胃底静脉曲张再出血的危险因素. 在临床工作中, 对GVI的肝硬化患者, 应根据其危险因素进行合理评价, 预测术后胃底静脉曲张破裂再出血率的可能性, 并在治疗前进行合理的干预; 对术后再出血的高危人群, 应积极随访监测, 并采取各种可能的措施加以预防.

虽然本研究已排除混杂因素的影响, 但所纳入的观察指标并不能覆盖所有与肝硬化疾病相关的影响因素, 因此还有待进一步扩大样本量和开展临床对照, 且本研究为回顾性研究, 对病例的选择可能存在一定的偏倚, 对相关结论仍需进一步探讨.

■名词解释

组织黏合剂: 一种α-氰基丙烯酸酯同系物经改性而制成的快速医用人体组织胶. 其与组织相容性好, 黏合强度高, 具有止血、止痛、保护创面、抑制细菌、预防感染、促进愈合等特点.

4 参考文献

1 Kang EJ, Jeong SW, Jang JY, Cho JY, Lee SH, Kim HG, Kim SG, Kim YS, Cheon YK, Cho YD, Kim HS, Kim BS. Long-term result of endoscopic Histoacryl (N-butyl-2-cyanoacrylate) injection for treatment of gastric varices. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 1494-1500 [PMID: 21472110 DOI: 10.3748/wjg.v17.i11.]

2 Saad WE, Darcy MD. Transjugular Intrahepatic Portosystemic Shunt (TIPS) versus Balloon-occluded Retrograde Transvenous Obliteration (BRTO) for the Management of Gastric Varices. *Semin Intervent Radiol* 2011; 28: 339-349 [PMID: 22942552 DOI: 10.1055/s-0031-1284461]

3 中华医学会消化内镜学分会食管胃静脉曲张学组. 消化道静脉曲张及出血的内镜诊断和治疗规范试行方案(2009年). 中华消化内镜杂志 2010; 27: 1-4

4 Garcia-Tsao G, Sanyal AJ, Grace ND, Carey W. Prevention and management of gastroesophageal varices and variceal hemorrhage in cirrhosis. *Hepatology* 2007; 46: 922-938 [PMID: 17879356 DOI: 10.1002/hep.21907]

5 Qureshi W, Adler DG, Davila R, Egan J, Hirota W, Leighton J, Rajan E, Zuckerman MJ, Fanelli R, Wheeler-Harbaugh J, Baron TH, Faigel DO. ASGE Guideline: the role of endoscopy in the management of variceal hemorrhage, updated July 2005. *Gastrointest Endosc* 2005; 62: 651-655 [PMID: 16246673]

6 de Franchis R. Revising consensus in portal hypertension: report of the Baveno V consensus workshop on methodology of diagnosis and therapy in portal hypertension. *J Hepatol* 2010; 53: 762-768 [PMID: 20638742]

7 令狐恩强. 食管胃底静脉曲张致上消化道出血的内镜下诊治. 中国实用内科杂志 2005; 25: 200-202

8 徐辉, 赵奎, 陈虹彬, 蒋明德, 曾维政, 郑淑梅, 秦建平, 吴晓玲. 内镜下组织胶注射治疗胃底静脉曲张的临床研究. 中华消化内镜 2008; 2: 30-32

9 Choudhuri G, Chetri K, Bhat G, Alexander G, Das K, Ghoshal UC, Das K, Chandra P. Long-term efficacy and safety of N-butylcyanoacrylate in endoscopic treatment of gastric varices. *Trop Gastroenterol* 2010; 31: 155-164 [PMID: 21560518]

10 王艳梅, 程留芳, 李楠, 吴凯, 翟俊山, 王雅文. 内镜下注射组织粘合剂治疗胃静脉曲张出血的排胶规律研究. 中国内镜杂志 2010; 16: 9-13

11 Chang YJ, Park JJ, Joo MK, Lee BJ, Yun JW, Yoon DW, Kim JH, Yeon JE, Kim JS, Byun KS, Bak YT. Long-term outcomes of prophylactic endoscopic

■同行评价
本文是对组织黏合剂注射术后胃底静脉曲张再出血肝脏相关危险因素的分析, 有一定的学术意义和临床指导价值. 指标选用比较全面, 分析方法比较合理, 结果可信.

histoacryl injection for gastric varices with a high risk of bleeding. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 2391-2397 [PMID: 19911276 DOI: 10.1007/s10620-009-1023-x]

12 Mosca I, Ligorría R, Tufare F, Villaverde A, Baldoni F, Martínez H, Chopita N. [N-butyl-2-cyanoacrylate for the treatment of gastric varices]. *Acta Gastroenterol Latinoam* 2012; 42: 27-32 [PMID: 22616494]

13 Paik CN, Kim SW, Lee IS, Park JM, Cho YK, Choi MG, Chung IS. The therapeutic effect of cyanoacrylate on gastric variceal bleeding and factors related to clinical outcome. *J Clin Gastroenterol* 2008; 42: 916-922 [PMID: 18645533 DOI: 10.1097/MCG.0b013e31811edcd1]

14 Wu CY, Yeh HZ, Chen GH. Pharmacologic efficacy in gastric variceal rebleeding and survival: including multivariate analysis. *J Clin Gastroenterol* 2002; 35: 127-132 [PMID: 12172356]

15 Hayashi H, Beppu T, Okabe H, Nitta H, Imai K, Doi K, Chikamoto A, Baba H. Combined measurements of serum bile acid level and splenic volume may be useful to noninvasively assess portal venous pressure. *J Gastroenterol* 2012; 47: 1336-1341 [PMID: 22569764 DOI: 10.1007/s00535-012-0599-7]

16 Min YW, Bae SY, Gwak GY, Paik YH, Choi MS, Lee JH, Paik SW, Yoo BC, Koh KC. A clinical predictor of varices and portal hypertensive gastropathy in patients with chronic liver disease. *Clin Mol Hepatol* 2012; 18: 178-184 [PMID: 22893868 DOI: 10.3350/cmh.2012.18.2.178]

17 高蓓, 许铠, 殷建忠, 付强, 王琦, 张雪辉, 吴少雄. 饮酒与三种转氨酶关系的探讨. 中华疾病控制杂志 2011; 15: 222-224

18 杨丽, 高艳章, 杨伟, 赵三红. 肝病患者3种血清酶联合检测及其意义. 检验医学与临床 2012; 9: 1224-1226

19 黄丽芳, 刘洪利, 赖其伟. 血清甲胎蛋白、a-L-岩藻糖苷酶及γ-谷氨酰转肽酶联合检测对原发性肝癌的诊断意义. 广东医学院学报 2011; 29: 149-151

20 王英, 朱波, 劳明, 黄玲莎, 黄金莲. 原发性肝癌患者血清酶类标志物变化的临床意义. 中国现代医学杂志 2011; 21: 521-523

21 Chang CJ, Hou MC, Liao WC, Lee FY, Lin HC, Lee SD. Risk factors of early re-bleeding and mortality in patients with ruptured gastric varices and concomitant hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol* 2012; 47: 531-539 [PMID: 22223176 DOI: 10.1007/s00535-011-0518-3]

编辑 田滢 电编 闫晋利

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

• 消息 •

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

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

世界华人消化杂志 2013年4月8日; 21(10): 915-919
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

胃肿瘤MSCT表现及其临床病理特征分析56例

林秉淞

林秉淞, 复旦大学附属中山医院青浦分院放射科 上海市 201700
林秉淞, 主要从事消化系病变的影像诊断.
通讯作者: 林秉淞, 201700, 上海市青浦区公园东路1158号, 复旦大学附属中山医院青浦分院放射科. living_lin@163.com
收稿日期: 2013-02-01 修回日期: 2013-03-05
接受日期: 2013-03-14 在线出版日期: 2013-04-08

MSCT manifestations and pathological features of gastric tumors: An analysis of 56 cases

Bing-Song Lin

Bing-Song Lin, Department of Radiology, Zhongshan Hospital, Fudan University, Qingpu Branch, Shanghai 201700, China
Correspondence to: Bing-Song Lin, Department of Radiology, Zhongshan Hospital, Fudan University, Qingpu Branch, 1158 Gongyuan East Road, Qingpu District, Shanghai 201700, China. living_lin@163.com
Received: 2013-02-01 Revised: 2013-03-05
Accepted: 2013-03-14 Published online: 2013-04-08

Abstract

AIM: To analyze the multi-slice spiral computed tomography (MSCT) features of different pathological types of gastric tumors to improve their diagnosis and differential diagnosis.

METHODS: Imaging and pathological data for 56 patients with gastric tumors who underwent MSCT dual-phase enhanced scan were reviewed retrospectively. The MSCT features and enhancement characteristics were compared among different pathological types of gastric tumors.

RESULTS: The pathological types of 56 cases of gastric tumors included adenocarcinoma (n = 48), mesenchymal tumor (n = 4), lymphoma (n = 2), neuroendocrine carcinoma (n = 1), and hepatoid adenocarcinoma (n = 1). Mesenchymal tumors showed specific growth pattern. MSCT enhancement manifestations of various types of gastric tumors were similar.

CONCLUSION: Observation of tumor growth pattern and enhancement manifestations by MSCT allows for improvement of the diagnostic accuracy of gastric tumors.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Gastric tumors; Computed tomography; Diagnosis

Lin BS. MSCT manifestations and pathological features of gastric tumors: An analysis of 56 cases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(10): 915-919 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/915.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i10.915

摘要

目的: 观察分析56例不同病理类型胃肿瘤的多排螺旋CT(multi-slice spiral computed tomography, MSCT)表现, 提高对胃肿瘤的诊断与鉴别诊断能力.

方法: 收集本院2011-01/2012-12收治的胃肿瘤病例56例, 均作MSCT平扫及双期增强扫描, 以病理结果为诊断依据, 比较不同病理类型肿瘤的MSCT表现, 归纳强化特点.

结果: 本组56例胃肿瘤病例, 病理结果分别为腺癌、间质瘤、淋巴瘤、神经内分泌癌、肝样腺癌, 以腺癌最多见(48/56). 间质瘤腔内、外生长, 腺癌、淋巴瘤及神经内分泌癌、肝样腺癌腔内生长. 而在MSCT表现(病灶形态及强化方式、程度)上, 本组其他各型肿瘤与腺癌均有相似之处.

结论: 通过对生长方式、MSCT表现特别是增强特点的观察, 能够丰富诊断胃肿瘤的思路, 加深对不同病理类型胃肿瘤的认识, 进一步提高诊断水平.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 胃肿瘤; 体层摄影术; 诊断

核心提示: 在进行多排螺旋CT检查前, 应口服足够多的水作为阴性对比剂, 使胃腔内尽可能充盈, 避免“胃壁增厚”诊断中的假阳性, 同时更好地衬托出胃壁的强化效果以利于观察.

■背景资料
胃肿瘤中腺癌占绝大多数. 其他病理类型肿瘤多排螺旋CT(MSCT)征象与腺癌类似, 但仔细观察各有特点. MSCT能良好显示病变及其与邻近组织结构的关系, 观察淋巴结转移. 通过分析MSCT征象, 可提高对各种病理类型肿瘤的认识, 减少误诊.

■同行评议者
王小众, 教授, 福建医科大学附属协和医院消化内科; 陈卫昌, 教授, 苏州大学附属第一医院消化内科

林秉淞. 胃肿瘤MSCT表现及其临床病理特征分析56例. 世界华人消化杂志 2013; 21(10): 915-919 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/915.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i10.915

■相关报道
本文关于神经内分泌癌个案报道的一组参考文献中, 可见神经内分泌癌伴发胃炎及腺癌以及侵犯肝脏、胰腺、横结肠、网膜囊.

0 引言

在胃肿瘤中, 胃腺癌占到绝大多数. 随着检查手段的不断丰富, 多排螺旋CT(multi-slice spiral computed tomography, MSCT)检查越来越多地运用到胃肿瘤的诊断中. 而免疫组织化学的广泛运用, 使得肿瘤的病理分型更加的精准. 而在MSCT诊断中, 不同病理类型的肿瘤往往有着相似甚至相同的表现. 细致分析MSCT表现, 全面考虑同种病变的不同征象、相似征象的不同病变, 对于提高病变的诊断与鉴别诊断能力具有重要意义.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2011-01/2012-12本院收治的胃肿瘤病例56例, 其中男44例, 女12例. 年龄最大90岁, 最小26岁, 平均64岁.

1.2 方法 所有病例均作MSCT平扫及双期增强扫描, 扫描前口服水1 000 mL左右作阴性对比剂. 采用GE公司Lightspeed 16排或64排螺旋CT机, 对比剂采用优维显(300 mgI/mL), 右肘正中静脉高压注射器团注80 mL, 注射速率3 mL/s, 延迟时间动脉期30-35 s, 门脉期70 s. 轴位扫描, 层厚层距7.5 mm.

所有病例测量病灶同一层面平扫及增强门脉期CT值, 计算增强前后强化幅度. 黏膜增厚者测量最厚处, 肿块者避开坏死区域测量实质部分.

2 结果

以病理(含免疫组织化学)结果为诊断依据, 56例胃肿瘤中腺癌48例, 间质瘤4例, 淋巴瘤2例, 神经内分泌癌1例, 肝样腺癌1例. 其中间质瘤、淋巴瘤及两种罕见肿瘤(神经内分泌癌、肝样腺癌)有免疫组织化学结果.

48例腺癌根据MSCT表现分为胃壁增厚组(36/48)和软组织肿块组(12/48). 增强扫描均可见异常强化, 胃壁增厚组可见线样、条索状强化, 软组织肿块组可见不均匀、团块状强化.

4例间质瘤病理提示2例为低度危险度, 1例为中等危险度, 1例为高度危险度. MSCT表现为类圆形软组织肿块, 2例(1例低危、1例中危)腔外生长、2例(1例低危、1例高危)腔内生长. 1例中危病灶长径>5 cm, 短径略>5 cm; 其余3例病灶直径<5 cm. 边缘光整或略不光整, 密度不均匀, 增强扫描呈较明显不均匀强化, 病灶周围均未见淋巴结转移. 免疫组织化学: CD117、CD34、DOG1及Vimentin 4项指标阳性或部分阳性, S-100、SMA及PCK 3项指标阴性, 1例高危病灶SMA及ki67部分阳性.

2例淋巴瘤均为非何杰金淋巴瘤(non-hodgkin lymphoma, NHL)大B细胞型, MSCT表现为胃壁不规则增厚, 密度不均匀, 增强后呈不均匀强化, 累及多个部位, 邻近可见多发淋巴结. 免疫组织化学: CD20、CD79a强阳性, PCK、LCA阳性, CD3、CD5、CD30不同程度阳性, CD10阴性.

1例神经内分泌癌MSCT表现为胃体前壁近小弯侧腔内生长肿块, 密度不均匀, 可见坏死, 增强扫描呈不均匀强化, 小弯侧可见肿大淋巴结. 病理提示溃疡型肿块, 浸润胃壁全层, 小弯侧淋巴结转移; 免疫组织化学: CgA、CD56强阳性, SyN灶性弱阳性, NSE部分阳性, S-100阴性.

1例肝样腺癌MSCT表现为黏膜不规则增厚, 局部突入腔内, 呈肿块样改变, 增强后强化明显, 以动脉期为甚. 免疫组织化学: PCK强阳性, AFP、Hepa、CK19、CK20、CgA、SyN不同程度阳性, ki67(70%阳性), CD56阴性.

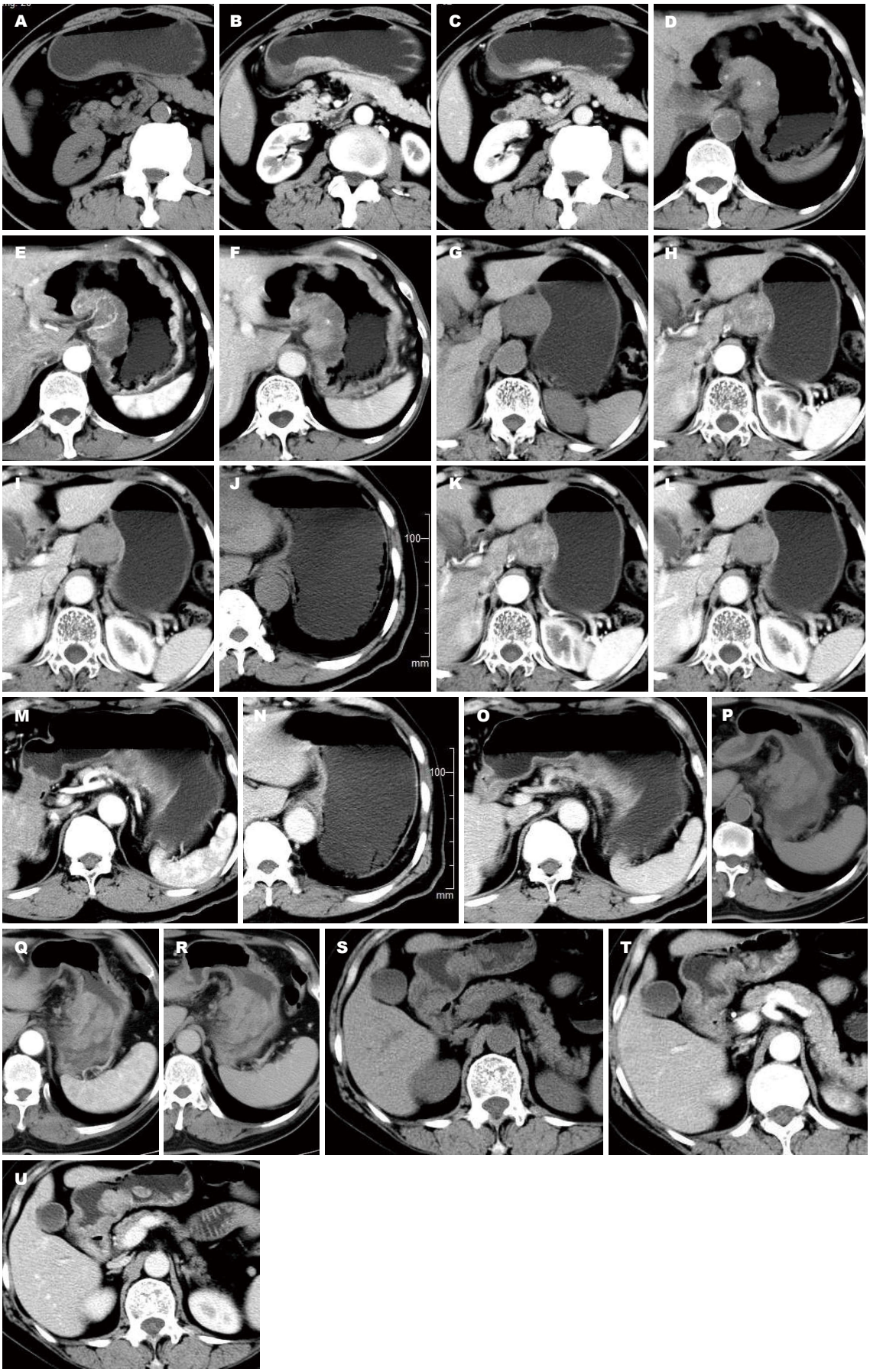
本组56例胃肿瘤发生部位及生长方式见表1, MSCT强化表现及增强前后强化幅度比较见表2. 部分病例图像见图1.

3 讨论

正常胃壁呈单层或2-3层强化, 如表现为3层强化结构, 内外层之间可见低密度层, 内层密度相对最高. 在正常充分扩张的情况下, 目前较为一致的看法[1,2], 认为胃壁厚度一般<5 mm.

3.1 不同病理类型的胃肿瘤有不同的MSCT表现 腺癌起源于上皮, 在胃部肿瘤中最常见. 目前文献中公认的CT诊断标准为: 胃壁的局灶性增厚, 可伴有胃壁多层结构的消失和/或显著的局限性异常强化. 当胃壁呈现多层强化时, 强化程度以内层(黏膜层)为标准[3]. 本组病灶胃壁局灶或广泛增厚, 或软组织肿块, 肿块邻近胃壁亦可见增厚, 大多累及1个部位, 少有累及2个或2个以上部位, 总体强化程度门脉期略强于动脉期, 形态特征及强化方式与文献报道基本相符[1,4,5], 并可见冯琦等[5]所述及的“白线”征.

间质瘤起源于间叶组织, 富血供, 具有腔外



■创新盘点

本组病例中, 间质瘤恶性程度与肿瘤大小无明显相关性, 因此, 肿瘤大小对于恶性程度的判断来说, 只能提供一定的参考意见, 需综合考虑. 1例肝样腺癌的增强后表现值得关注, 与腺癌不同而与肝细胞肝癌相仿, 此发现是否有意义, 是否与病变内肝样分化有关尚需更多病例观察、分析.

图 1 不同病理类型胃肿瘤MSCT表现. A-C: 腺癌(胃壁增厚); A: 平扫; B: 增强动脉期; C增强门静脉期胃壁增厚, 条索样强化, 可见“白线征”; D-F: 腺癌(腔内肿块); D: 平扫; E: 增强动脉期; F: 增强门静脉期腔内肿块, 团块样强化; G-I: 间质瘤; G:

■名词解释
“白线”征: 冯琦等提出, 腺癌病例增强动脉期及门静脉期黏膜面出现结节状、斑片状、条带状明显强化的征象.

平扫; H: 增强动脉期; I: 增强门静脉期腔外生长境界清楚的肿块, 不均匀强化, 内部可见坏死; J-O: 淋巴瘤; J, K: 平扫; L, M: 增强动脉期; N, O: 增强门静脉期; 胃壁增厚, 不均匀强化, 累及贲门、胃体、胃窦; P-R: 神经内分泌癌; P: 平扫; Q: 增强动脉期; R: 增强门静脉期腔内生长肿块, 内部坏死, 不均匀强化; S-U: 肝样腺癌; S: 平扫; T: 增强动脉期; U: 增强门静脉期胃壁增厚, 增强动脉期强化更明显.

表 1 56例胃肿瘤生长方式

病理类型	n	发生部位	生长方式
腺癌	48	胃窦部或胃角(21/48); 胃底贲门(8/48); 胃体(15/48); 全胃广泛累及(4/48)	腔内生长
间质瘤	4	胃窦部(2/4); 胃底(2/4)	腔内、外生长
淋巴瘤	2	全胃广泛累及(2/2)	腔内生长
神经内分泌癌	1	胃体(1/1)	腔内生长
肝样腺癌	1	胃窦部(1/1)	腔内生长

表 2 56例胃肿瘤MSCT增强表现

病理类型	n	病灶形态及强化特点	病灶同一层面强化幅度(Hu)
腺癌	48	胃壁局灶性增厚(36/48), 线样、条索状强化 腔内肿块(12/48), 不均匀、团块状强化	平均40.44
间质瘤	4	腔外肿块, 低/中危(2/4), 不均匀强化 腔内肿块, 低危(1/4), 不均匀强化 腔内肿块, 高危(1/4), 不均匀强化	平均36
淋巴瘤	2	胃壁不规则增厚2例, 不均匀强化	平均29.50
神经内分泌癌	1	腔内肿块1例, 不均匀强化	约30
肝样腺癌	1	胃壁不规则增厚1例, 不均匀强化	约40

生长倾向. 良性、交界性间质瘤体积较小, 通常<5 cm, 恶性间质瘤体积较大, 通常>5 cm[6,7]. 病灶可见囊性变及斑点状钙化灶[8]. 本组4例间质瘤病灶大小与恶性程度无明显相关, 1例高危病灶<5 cm, 可能与胃底腔内生长有关. 境界清楚的腔外肿块有一定诊断指向性, 腔内生长肿块境界亦较清楚, 其邻近黏膜无明显累及.

淋巴瘤起源于黏膜下, 多在黏膜下浸润生长. 主要分为结节型、溃疡型、弥漫浸润型. 主要表现为胃壁增厚, 黏膜皱襞结节样改变. Megibow等[9]将胃壁增厚具体分为: 局限性增厚, 局部呈结节样改变; 节段性增厚, 累及范围小于胃周径50%; 弥漫性增厚, 累及胃周径50%以上. 病变可以表现为不同大小、深度及数量的溃疡, 伴或不伴溃疡的肿块, 以及黏膜皱襞的增厚[10]. 常累及2个或2个以上部位. 病变分布广泛、多灶性是淋巴瘤的特点[11], 本组2例淋巴瘤均累及2个以上部位, 胃壁广泛增厚, 同时胃腔无明显缩小.

神经内分泌癌起源于黏膜下, 分为类癌、小细胞癌及大细胞癌. 类癌预后较好, 小细胞癌预后差, 大细胞癌罕见, 预后亦较差. 可表现为肿块, 黏膜面可形成溃疡. 临床少见, 多为个案报道[12-15]. 本组1例神经内分泌癌形态与强化表现与腺癌极为相似, 亦可见黏膜增厚及肿块, 肿块内有坏死, 仅从MSCT征象上较难以鉴别.

肝样腺癌起源于胃黏膜, 病理上癌肿组织内除观察到腺癌病变外, 还可见肝样分化, 癌细胞特点与排列方式类似于肝癌, 两者之间逐渐移行. 分化低, 预后较腺癌差. 目前研究不多, 并存在较多争论[16], 因而尚无明确的病理学定义, 临床认识不够, 文献报道并不多见. 本组1例肝样腺癌MSCT表现与腺癌相似, 具有特征性的是其动脉期相对于门脉期更为明显的强化, 有别于腺癌的一般表现而更类似于肝细胞肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的增强表现, 可能与病灶内肝样分化有关.

总之, 以上不同类型癌肿MSCT表现在形态改变及强化方式、强化程度上比较相像, 而又各具特点. 各种肿瘤的MSCT表现提示其生物学特征, 能为诊断与鉴别诊断提供丰富的信息, 但也要看到, 不同病理类型的癌肿MSCT表现有交叉性, 在鉴别诊断上有一定困难, 需要常规病理

结合免疫组织化学来明确诊断.

而对于病灶MSCT增强前后(门脉期与平扫相比)净增加CT值在不同病理类型病变的鉴别意义上, 本组病例中, 与腺癌平均增加幅度相比, 间质瘤、淋巴瘤、神经内分泌癌、肝样腺癌表现均相仿.

4 参考文献

1 王小平, 沈明华, 余旭茗, 余瑞明, 蔡建春, 张海萍. 胃癌16层螺旋CT术前分期与术后病理对比研究. 中国医学计算机成像杂志 2007; 13: 435-439
2 张磊, 黎昕. 螺旋CT双期增强扫描对胃癌的诊断. 实用临床医学 2005; 6: 107-108
3 Fukuya T, Honda H, Hayashi T, Kaneko K, Tateshi Y, Ro T, Maehara Y, Tanaka M, Tsuneyoshi M, Masuda K. Lymph-node metastases: efficacy for detection with helical CT in patients with gastric cancer. *Radiology* 1995; 197: 705-711 [PMID: 7480743]
4 彭永军, 闫剑锋, 阮锦荣. 胃癌的螺旋CT诊断价值探讨. 影像诊断与介入放射学 2008; 17: 173-174
5 冯琦, 庄治国, 许建荣. 胃癌MSCT扫描中征象学改变的初步小结. 中国医学计算机成像杂志 2007; 13: 93-96
6 吕毛古, 艾书跃, 吴建伟, 赵颖, 袁梅. 胃肠间质瘤的CT诊断及治疗评价. 医学影像学杂志 2007; 18: 60-64
7 李欠云, 高燕, 蔡红芳, 谢彩萍, 樊树峰. 多层螺旋CT及超声内镜对胃肠道间叶源性肿瘤的诊断价值. 中国临床医学影像杂志 2008; 19: 250-254
8 King DM. The radiology of gastrointestinal stromal tumours (GIST). *Cancer Imaging* 2005; 5: 150-156 [PMID: 16361144 DOI: 10.1102/1470-7330.2005.0109]
9 Megibow AJ, Balthazar EJ, Naidich DP, Bosniak MA. Computed tomography of gastrointestinal lymphoma. *AJR Am J Roentgenol* 1983; 141: 541-547 [PMID: 6603767 DOI: 10.2214/ajr.141.3.541]
10 Gligorievski A. CT evaluation of gastric lymphoma. *Prilozi* 2009; 30: 125-138 [PMID: 20087255]
11 任小军, 章士正, 董旦君, 王丽华, 金重午. 原发性胃淋巴瘤的CT表现及误诊原因. 世界华人消化杂志 2008; 16: 1807-1811
12 Kaizaki Y, Fujii T, Kawai T, Saito K, Kurihara K, Fukayama M. Gastric neuroendocrine carcinoma associated with chronic atrophic gastritis type A. *J Gastroenterol* 1997; 32: 643-649 [PMID: 9349990 DOI: 10.1007/BF02934114]
13 Terada T, Maruo H. Simultaneous large cell neuroendocrine carcinoma and adenocarcinoma of the stomach. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4831-4834 [PMID: 22147986 DOI: 10.3748/wjg.v17.i43.4831]
14 Kim HY, Choi SI, Kim YH. Neuroendocrine tumor of unknown primary accompanied with stomach adenocarcinoma. *J Gastric Cancer* 2011; 11: 234-238 [PMID: 22324016 DOI: 10.5230/jgc.2011.11.4.234]
15 Hosoya Y, Nagai H, Koinuma K, Yasuda Y, Kaneko Y, Saito K. A case of aggressive neuroendocrine carcinoma of the stomach. *Gastric Cancer* 2003; 6: 55-59 [PMID: 12673427 DOI: 10.1007/s101200300007]
16 Lu CC, De-Chuan C, Lee HS, Chu HC. Pure hepatoid adenocarcinoma of the stomach with spleen and lymph-node metastases. *Am J Surg* 2010; 199: e42-e44 [PMID: 20359564 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2009.05.038]

■同行评价
本文提供了一些少见疾病的MSCT的表现, 有一定的临床参考价值.

编辑 田滢 电编 闫晋利

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

本刊讯 2011-12-02, 中国科学技术信息研究所在北京发布2010年中国科技论文统计结果, 经过中国精品科技期刊遴选指标体系综合评价, 《世界华人消化杂志》被评为2011年度中国精品科技期刊. 中国精品科技期刊以其整体的高质量示范作用, 带动我国科技期刊学术水平的提高. 精品科技期刊的遴选周期为三年. (《世界华人消化杂志》编辑部)

世界华人消化杂志 2013年4月8日; 21(10): 920-924
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

胰腺实性假乳头状瘤的超声诊断及误诊相关因素

周爱香, 陈 伟, 李 凌, 李保田, 阴海霞, 屈娟娟, 李成群

■背景资料
胰腺实性假乳头状瘤(SPTP)极为罕见, 临床延、误诊断率甚高, 超声对SPTP的诊断价值亦存在较大的争议.

周爱香, 陈伟, 阴海霞, 屈娟娟, 中国人民解放军第153中心医院特检科 河南省郑州市 450042
李保田, 中国人民解放军第153中心医院胸心外科 河南省郑州市 450042
李凌, 河南省国土厅信息中心 河南省郑州市 450042
李成群, 中国人民解放军第153中心医院放射科 河南省郑州市 450042
周爱香, 副主任医师, 主要从事临床肿瘤超声诊断学的研究.
作者贡献分布: 文献检索、数据、材料收集及分析等研究过程、论文撰写由周爱香完成; 数据、材料分析、论文审阅及修改由李保田完成; 部分数据、材料收集、分析及统计学处理等由周爱香、陈伟、李凌、阴海霞、屈娟娟及李成群完成.
通讯作者: 李保田, 主任医师, 450042, 河南省郑州市郑上路602号, 中国人民解放军第153中心医院胸心外科. libting292@sina.com
收稿日期: 2013-01-16 修回日期: 2013-03-02
接受日期: 2013-03-14 在线出版日期: 2013-04-08

Ultrasonic diagnosis of solid pseudopapillary tumor of the pancreas: Causes of misdiagnosis

Ai-Xiang Zhou, Wei Chen, Ling Li, Bao-Tian Li, Hai-Xia Yin, Juan-Juan Qu, Cheng-Qun Li

Ai-Xiang Zhou, Wei Chen, Hai-Xia Yin, Juan-Juan Qu, Department of Specific Diagnosis, the 153rd Central Hospital of PLA, Zhengzhou 450042, Henan Province, China
Ling Li, Information Center of Land Bureau of Henan Province, Zhengzhou 450042, Henan Province, China
Bao-Tian Li, Department of Cardiothoracic Surgery, the 153rd Central Hospital of PLA, Zhengzhou 450042, Henan Province, China
Cheng-Qun Li, Department of Radiology, the 153rd Central Hospital of PLA, Zhengzhou 450042, Henan Province, China
Correspondence to: Bao-Tian Li, Chief Physician, Department of Cardiothoracic Surgery, the 153rd Central Hospital, 602 Zhengshang Road, Zhengzhou 450042, Henan Province, China. libting292@sina.com
Received: 2013-01-16 Revised: 2013-03-02
Accepted: 2013-03-14 Published online: 2013-04-08

Abstract

AIM: To study the ultrasound diagnosis and causes of misdiagnosis of solid pseudopapillary tumor of pancreas (SPTP).

METHODS: Ultrasonic and clinical data for 11 patients with pathologically confirmed SPTP who underwent surgical treatment from June 2008 to June 2011 at our hospital were analyzed retrospectively.

RESULTS: All cases had a single round or oval-shaped, mixed slightly low echo mass. The tumor had a clear boundary in 9 cases and a complete capsule in 8 cases. Ten cases had no post-tumor echo attenuation. Adjacent tissue or organ compression and displacement were observed in 9 cases. Eight cases showed little blood flow in and around the tumor. All cases showed no dilatation in the pancreatic duct and bile duct, except for 1 case showing slight widening of distal pancreatic duct. Five cases of SPTP were diagnosed by ultrasound before operation; three cases were highly suspected to have SPTP after fully considering the age, sex, and CT findings. Because of irregular tumor morphology and capsule, local thickening or lobulated convex growth, unclear surrounding tissue, complicated structure and echo of internal tumor, three cases were misdiagnosed.

CONCLUSION: SPTP display a group of "sonographic signs", which are important clues to and basis for the diagnosis of SPTP. Main reasons for misdiagnosis are complicated and diverse.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Pancreas; Papillary tumor; Ultrasound diagnosis; Causes of misdiagnosis

Zhou AX, Chen W, Li L, Li BT, Yin HX, Qu JJ, Li CQ. Ultrasonic diagnosis of solid pseudopapillary tumor of the pancreas: Causes of misdiagnosis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(10): 920-924 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/920.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i10.920

摘要

目的: 探讨胰腺实性假乳头状瘤(solid pseudopapillary tumor of pancreas, SPTP)的超声诊断和误诊原因.

方法: 分析本院2008-06/2011-06经手术、病理证实11例SPTP的超声表现和相关临床资料.

结果: 11例均为单发圆形或椭圆形、实性或混合性略低回声团; 9例(9/11)边界较清楚, 8例

■同行评议者
谭晓冬, 教授, 中国医科大学附属盛京医院

(8/11)包膜完整, 10例(10/11)瘤后回声无衰减, 9例(9/11)相邻组织器官受压、移位; 8例(8/11)瘤内及周边可见少许血流信号; 除1例胰头SPTP其远端胰管略宽外(0.3 cm), 其余所有患者胆管、胰管均无扩张. 术前超声检查明确诊断 5例(5/11); 结合年龄、性别、CT高度可疑诊断3例(3/11); 因瘤体形态、包膜欠规整, 局部增厚或呈分叶状外凸生长, 与周围组织界限不清, 瘤内结构回声复杂、多样等因素延、误诊3例(3/11).

结论: SPTP的超声表现特征为一组“声像图征象群”, 是超声诊断SPTP的重要线索和可靠指标. 其声像图复杂、多样. 医师对该疾病缺乏足够的认识是造成延、误诊断的主要原因.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 胰腺; 乳头状瘤; 超声诊断; 误诊原因

核心提示: 胰腺实性假乳头状瘤(solid psoudo papillary tumor of pancreas, SPTP)超声表现特征为一组“声像图征象群”, 他是超声诊断SPTP的重要线索和可靠指标. 其声像图复杂、多样, 检诊医师对该疾病缺乏足够的认识是造成延、误诊的主要因素.

周爱香, 陈伟, 李凌, 李保田, 阴海霞, 屈娟娟, 李成群. 胰腺实性假乳头状瘤的超声诊断及误诊相关因素. 世界华人消化杂志 2013; 21(10): 920-924 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/920.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i10.920

0 引言

胰腺实性假乳头状瘤(solid psoudo papillary tumor of pancreas, SPTP)是一种极罕见的具有恶性潜能的良性肿瘤或低度恶性肿瘤, 其生物学定义为胰腺交界性肿瘤. SPTP的发病率约占胰腺实体肿瘤的0.13%-2.70%[1], 因其缺乏典型的症状和体征, 临床延、误诊高达97.3%[2]. 本文分析经手术、病理证实11例SPTP的超声表现特征和误诊原因, 以期提高对SPTP的认识和超声诊断水平.

1 材料和方法

1.1 材料 收集我院2008-06/2011-06超声检查发现并经手术、病理证实SPTP 11例. 男1例, 年龄46岁; 女10例, 年龄20-59岁(平均31岁). 3例因间歇性腹痛、腹部发现肿物就医, 8例无自觉症状、体检时超声检查发现. 患者无发热、黄疸、纳差、消瘦等不适, 既往亦无胰腺炎、糖尿病和腹部外伤史. 术前血淀粉酶、血糖、肝脏功能, 肿瘤标志物(Ca199、CEA、AFP 、Ca125)等检查均正常; 超声检查肿瘤位于胰头部5例, 胰体部2例, 胰体尾交界部1例, 胰尾部3例. 11例SPTP均行肿瘤姑息或根治性手术, 切除标本病理检查结果(其中8例经免疫组织化学检查证实)均为SPTP. 术后随访6-42 mo, 除1例肿瘤局部复发外, 余患者超声复查均未见复发及转移.

1.2 方法 采用GE Logiq 7、Philips 7500、Aloka α10、GE Vivid 7等彩色超声诊断仪, 探头频率3-5 MHz. 检查时要求患者空腹8 h以上; 首先扫查肝、胆、胰、脾, 发现肿瘤后详细观察其位置、形态、大小、回声、钙化及包膜是否完整和邻近组织器官有无受压、移位、黏连、浸润和转移等; 而后用彩色多普勒观察肿瘤血流分布特点, 检测供瘤动脉最大血流速度(Vmax)和阻力指数(resistance index, RI), 所得内容、数据及特征性图像储存超声工作站. 将SPTP彩色多普勒超声表现特征与手术所见、病理检查结果进行分析对照.

统计学处理 采用SPSS18.0软件进行分析, 计数资料以例数和百分比进行描述, 计量资料以均数表示.

2 结果

2.1 SPTP的超声表现 11例SPTP均为单发, 呈圆形或椭圆形、实性(2例)或囊实混合性(9例)不均质低回声团(图1), 大小约3.8 cm×4.3 cm-8.9 cm×12.0 cm(平均6.8 cm×7.9 cm); 9例(9/11)肿瘤边界较清晰; 8例(8/11)包膜较完整; 10例(10/11)瘤后回声无衰减或略增强(图1A-C, E); 1例(1/11)胰头部SPTP远端胰管略增宽(0.3 cm), 余患者胰、胆管均无扩张; 2例(2/11)瘤内及周边斑点状或弧形钙化灶(图1D); 8例(8/11)瘤内及周边均可见少许血流信号(图1E), 脉冲多普勒(PW)检测动脉最大血流速度(Vmax)为11.8-52.6 cm/s(平均为22.6 cm/s), RI为0.45-0.68(平均为48.2). 3例误诊病例中1例胰头部巨大混合型肿瘤(8.2 cm×10.9 cm), 对周围脏器明显推移挤压, 与胃后壁分界不清, 而误诊为“胃壁良性肿瘤”(图1B); 1例实性SPTP因瘤体形态欠规则, 呈分叶状外凸生长, 疑诊为胰腺癌(图1C); 另1例因瘤体较大、以多囊状液性暗区为主, 且囊液清亮, 声像图酷似“胰腺囊腺瘤”而误诊(图1E).

■研发前沿
探讨SPTP发病原因、生物学规律和超声表现的复杂性、多样性; 提高其超声诊断及鉴别诊断水平是亟待临床研究、解决的问题.

■相关报道
赵之明《胰腺实性假乳头状瘤临床诊治分析(附69例报告)》对SPTP的发病规律、影像学特征、诊断和鉴别诊断、治疗原则进行了阐述和报道.

■创新盘点
将SPTP的超声表现特征系统化、个体化、多元化分析归类, 提出一组“声像图征象群”是超声诊断SPTP的重要线索和可靠指标. 并对SPTP声像图表现的复杂性、多样性和造成延误诊断的相关因素进行了系统的阐述.

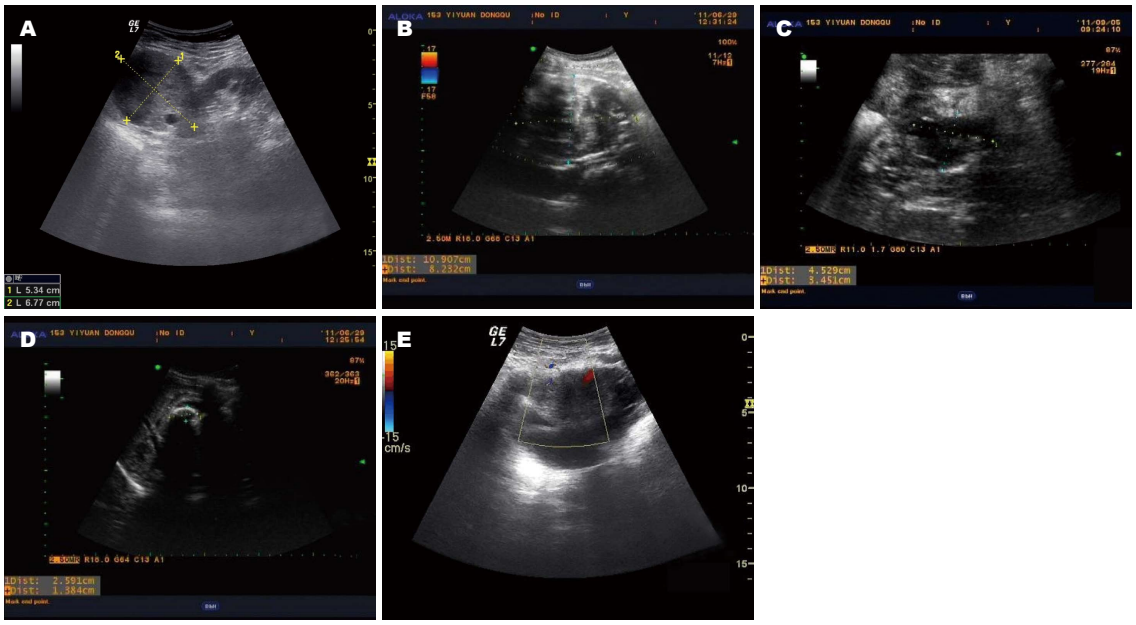


图 1 不同类型SPTP声像图表现. A: 胰尾实性为主SPTP; B: 误诊胃壁良性肿瘤; C: 误诊为胰腺癌; D: SPTP边缘弧形钙化灶; E: 误诊胰腺囊腺瘤.

2.2 诊断结果 本组术前超声检查诊断为SPTP 5例(5/11); 结合年龄、性别、CT检查等高度可疑诊断3例(术后经病理及免疫组织化学证实), 另3例(3/11)分别误诊为“胃壁良性肿瘤”、“胰腺囊腺瘤”和“胰腺恶性肿瘤”. 11例SPTP超声显示肿瘤部位、形态、大小、内部结构及相邻组织器官受压、移位和胰、胆管扩张情况与术中所见和肿瘤标本大体解剖基本一致. 5例瘤体形态、包膜欠规整, 局部增厚或呈分叶状凸出生长, 与周围组织界限不清, 其中1例肿瘤(基底部)侵及门、腔静脉而行肿瘤姑息性切除; 1例胰体尾部肿瘤包绕脾血管行肿瘤+脾脏联合切除, 另1例因黏连较重、无法分离, 被迫行肿瘤+胰-十二指肠切除术, 2例术中证实为纤维性黏连, 经分离后将肿瘤完整切除, 11例术后病理、免疫组织化学(8例)检查诊断为SPTP.

3 讨论

■应用要点
本文提出的SPTP“声像图征象群”及超声误、漏诊相关因素分析结论, 对SPTP的超声诊断有重要参考价值及临床意义, 简化、统一、规范的SPTP超声表现特征描述, 有益于开展学术间的交流与合作.

SPTP由Frantz于1959年首次报道[3], 文献中使用诊断名称繁多, 如实性乳头状上皮瘤、乳头状囊性肿瘤、囊实性乳头状腺泡细胞瘤、Frantz瘤等[4-7], 1996年WHO将其统一命名为SPTP后[8], 国内外对该肿瘤的报道才逐渐增多. SPTP其组织来源至今尚不清楚, 免疫组织化学提示可能起源于一种具有多种分化方向的胰腺胚胎多能干细胞[9], 而该细胞在婴幼儿时期即可出现, 其增殖发育和生长过程相当缓慢, 临床多在体检时被超声或CT检查发现[10]; 黄彬等[11]认为SPTP可能起源胚胎发育早期黏附于胰腺的生殖脊/卵巢原基相关细胞, 故SPTP绝大多数为青年女性患者[12], 本组10例为女性, 其平均年龄31岁. 由于SPTP缺乏典型的症状和体征, 血清淀粉酶、肝脏功能、肿瘤标志物(Ca19-9、CEA、Ca125、癌胚抗原、甲胎蛋白)检测均无特异性诊断价值[13,14], 临床延诊率、误诊率甚高. 彩色多普勒超声可从多方位、多切面进行实时动态观察, 清晰显示肿瘤部位、形态、大小、包膜、内部回声、血流信号特征和有无胰、胆管扩张及相邻组织器官受压、移位等, 尤其对SPTP囊、实结构及供瘤血管分布较其他检查判断更为准确, 且以无创、价廉、重复性好为优势, 是目前检查、诊断SPTP的首选方法和重要手段.

分析11例SPTP的超声表现和复习相关文献资料, 作者认为SPTP的超声表现特征主要是: (1)肿瘤可生长于胰腺任何部位, 但以胰头[15]和胰尾部较多见(本组8例); (2)肿瘤较大且多为单发, 呈圆形或椭圆形, 偶呈分叶状向外浸润生长; (3)边界较清晰, 多有较厚高回声完整纤维包膜, 但可厚薄不一, 瘤后回声无衰减或略增强; (4)瘤内多为囊实混合性回声(本组9例, 其中以实为主5例, 囊、实参半3例, 以囊为主1例), 实性及类囊性回声较少见(本组实性2例, 无类囊性病例); (5)部分瘤内或周边可见弧形或斑点状强回声后伴声影(本组2例); (6)肿瘤多位于胰腺表面, 呈膨胀

性生长, 相邻组织器官易受压、移位或变形(本组9例); (7)SPTP极少引起胰、胆管扩张, 即使胰头部肿瘤也很少见(本组除1例胰头部肿瘤其远端胰管略宽外, 其余所有患者均无胰、胆管扩张), 这可能与肿瘤呈外生性、膨胀性生长且生长缓慢和对周围组织推挤移位有关; (8)瘤内及周边多探及少量血流信号(本组8例), 部分瘤内可无血流信号(本组3例), 考虑为SPTP生长较缓慢, 供瘤血管生成较少所致; (9)少数患者可出现区域淋巴结肿大、腹膜后及远处脏器转移灶(多提示恶性SPTP). 作者认为上述SPTP的超声表现特征为一组 “声像图征象群”, 该“征象群”是超声诊断SPTP的重要线索和可靠指标. 我们依据此“征象群”指标对照分析判断, 使本组5例(5/11)术前超声检查即明确诊断, 3例结合年龄、性别、CT检查高度可疑诊断为SPTP(其中2例术前穿刺活检亦未明确诊断, 术后经病理及免疫组织化学检查确诊), 如将此3例纳入统计范围, 本组术前诊断准确率则由45.5%(5/11)上升为72.7%(8/11). 我们体会, 超声对SPTP诊断及鉴别诊断具有重要参考价值和意义, 如结合临床特点及其他影像学检查可明显提高诊断准确率. 而SPTP超声表现特征显示越多, 对该肿瘤的诊断准确性越高, 任何单一声像图特征对SPTP的诊断都缺乏足够支持和依据.

回顾分析3例误诊病例的临床资料, 作者认为造成误诊的主要原因为: (1)STPT多位于胰腺表面, 呈膨胀性生长, 瘤体较大时常由腹膜后延伸至前腹壁, 致使周围组织器官受压、变形、移位, 彼此解剖位置及结构均发生改变, 如两者发生黏连则超声很难辨清肿瘤来源. 本组1例胰头部巨大混合型肿瘤(8.2 cm×10.9 cm), 对周围脏器明显推移挤压, 与胃后壁分界不清, 而误诊为“胃壁良性肿瘤”; (2)胰腺属腹膜后器官, 位置隐蔽, 周围解剖关系复杂; 如患者体型肥胖和/或肠道气体干扰较大时, 超声检查很难获得清晰优质图像, 对周围血管等与肿瘤的关系及是否受侵更是观察受限. 本组1例胰头部肿瘤基底部与门、腔静脉黏连和另1例胰体尾部肿瘤包裹脾血管, 术前超声检查未能提示黏连、侵犯程度, 故行肿瘤姑息切除及肿瘤+脾脏摘除; (3)SPTP临床十分罕见, 其发病率仅占胰腺实体肿瘤的0.13%-2.7%; 临床及实验室检查无特异性, 检查医师对该肿瘤影像学表现及临床特点认知的局限, 诊断、鉴别诊断经验不足等, 故极易发生误、漏诊; (4)STPT声像图复杂、多样, 常易与胰腺癌、胰岛细胞瘤、胰腺囊腺瘤、胰腺假性囊肿等相混淆, 本组1例包膜欠规整, 局部略向外突出, 内呈实性不均稍低回声团块, 误诊为“胰体部恶性肿瘤”; 另1例因瘤体较大、以囊状液性暗区为主, 且囊液清亮, 声像图酷似“胰腺囊腺瘤”而误诊.

总之, SPTP的超声表现特征为一组 “声像图征象群”, 是超声诊断SPTP的重要线索和可靠指标. 其声像图复杂、多样, 诊断医师对该疾病缺乏足够的认识是造成延、误诊断的主要原因.

■名词解释
声像图征象群: 指某肿瘤或疾病一组或一系列超声特征性表现.

4 参考文献

1 Mortenson MM, Katz MH, Tamm EP, Bhutani MS, Wang H, Evans DB, Fleming JB. Current diagnosis and management of unusual pancreatic tumors. *Am J Surg* 2008; 196: 100-113 [PMID: 18466869 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2008.02.005]
2 陈创奇, 詹文华, 何裕隆, 叶新梅, 董文广, 兰平, 陈正煊. 胰腺乳头状囊实性肿瘤的临床病理特点及其诊治(国内、外文献复习附1例报告). 中国普外基础与临床杂志 2002; 9: 388-391
3 Fratz VK. Tumors of the pancreas. In: Anonymous atlas of tumor pathology. Washington DC: Armed Forces Institute of Pathology; 1959: 32-33
4 Klimstra DS, Wenig BM, Heffess CS. Solid-pseudopapillary tumor of the pancreas: a typically cystic carcinoma of low malignant potential. *Semin Diagn Pathol* 2000; 17: 66-80 [PMID: 10721808]
5 Notohara K, Hamazaki S, Tsukayama C, Nakamoto S, Kawabata K, Mizobuchi K, Sakamoto K, Okada S. Solid-pseudopapillary tumor of the pancreas: immunohistochemical localization of neuroendocrine markers and CD10. *Am J Surg Pathol* 2000; 24: 1361-1371 [PMID: 11023097]
6 张天元. 超声检查对胰腺实性假乳头状瘤诊断价值. 医学影像学杂志 2011; 21: 1109-1111
7 Soudack M, Ben-Nun A, Malkin L, Hashmonai M. [Solid and papillary pancreatic neoplasm]. *Harefuah* 2000; 138: 105-107, 174 [PMID: 10883070]
8 赵之明, 王敬, 李海林, 向昕, 史宪杰, 纪文斌, 黄晓强, 张文智, 董家鸿. 胰腺实性假乳头状瘤临床诊治分析(附69例报告). 中国现代普通外科进展 2010; 13: 20-23
9 Adams AL, Siegal GP, Jhala NC. Solid pseudopapillary tumor of the pancreas: a review of salient clinical and pathologic features. *Adv Anat Pathol* 2008; 15: 39-45 [PMID: 18156811]
10 Vargas-Serrano B, Domínguez-Ferreras E, Chinchón-Espino D. Four cases of solid pseudopapillary tumors of pancreas: imaging findings and pathological correlations. *Eur J Radiol* 2006; 58: 132-139 [PMID: 16377114]
11 黄彬, 陆炯炯, 易滨, 程红岩. 胰腺实性假乳头状瘤的影像学诊断分析(附21例报告). 临床放射学杂志 2010; 29: 1345-1348
12 Papavramidis T, Papavramidis S. Solid pseudopapillary tumors of the pancreas: review of 718 patients reported in English literature. *J Am Coll Surg* 2005; 200: 965-972 [PMID: 15922212]
13 Herrmann KA, Helmberger T, Bruns C, Reiser MF, Zech CJ. [Solid pseudopapillary pancreas tumors--often neglected]. *Radiologe* 2008; 48: 764-769 [PMID:

■同行评价
本文较好的介绍了SPTP的超声诊断方面的研究和经验, 立题有较强的创新性和实用性, 临床价值较高.

18648761 DOI: 10.1007/s00117-008-1673-2]
14 辛宪磊, 陈永亮, 黄志强, 刘志伟, 张煊, 李鸾, 王勋, 冯健. 胰腺多发实性假乳头状瘤1例并文献复习. 军医进修学院学报 2012; 33: 780-782
15 唐晓俊, 梁泉. 胰腺实性假乳头状瘤的影像学诊断及文献回顾. 医学研究生学报 2008; 21: 1270-1273

编辑 田滢 电编 闫晋利

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

• 消息 •

百世登出版集团推出12种开放获取生物医学期刊全部被PubMed和PMC收录

本刊讯 由美国国立医学图书馆(U.S. National Library of Medicine, 简称NLM), 美国国立生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, 简称NCBI))和美国国立卫生研究院(National Institutes of Health, 简称NIH), 共同于2010-2011年, 收录了百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group Co., Limited, 简称BPG)出版的12种开放获取生物医学期刊. 12种期刊被NLM, NCBI和NIH共同主办的PubMed Central和PubMed平台, 公开面向全球发布, 读者免费阅读和下载全文. 12种期刊被收录的名称及网址如下:

1 World Journal of Biological Chemistry (世界生物化学杂志)
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1495/

2 World Journal of Cardiology (世界心脏病学杂志)
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1320/

3 World Journal of Clinical Oncology (世界临床肿瘤学杂志)
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1494/

4 World Journal of Diabetes (世界糖尿病杂志)
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1498/

5 World Journal of Gastrointestinal Endoscopy (世界胃肠内镜杂志)
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1323/

6 World Journal of Gastrointestinal Oncology (世界胃肠肿瘤学杂志)
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1324/

7 World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology (世界胃肠病理生理学杂志)
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1496/

8 World Journal of Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics (世界胃肠药理学与治疗杂志)
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1497/

9 World Journal of Gastrointestinal Surgery (世界胃肠外科杂志)
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1325/

10 World Journal of Hepatology (世界肝病学杂志)
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1321/

11 World Journal of Radiology (世界放射学杂志)
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1322/

12 World Journal of Stem Cells (世界干细胞杂志)
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1470/

(总编辑: 马连生2011-05-30)

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2013年4月8日; 21(10): 925-930
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

特殊副脾的CT与MRI征象

彭俊红, 刘 松, 周利华, 郭俊林, 王慧明

彭俊红, 刘松, 周利华, 郭俊林, 王慧明, 普爱医院放射科 湖北省武汉市 430034
彭俊红, 副主任医师, 主要从事骨肌系统及消化系影像诊断的研究.
作者贡献分布: 彭俊红、郭俊林及王慧明负责病例搜集; 本文写作由彭俊红、刘松及周利华完成.
通讯作者: 彭俊红, 副主任医师, 430034, 湖北省武汉市硚口区古田三路, 普爱医院放射科. 513537466@qq.com
电话: 027-68831395
收稿日期: 2013-01-15 修回日期: 2013-02-23
接受日期: 2013-03-15 在线出版日期: 2013-04-08

CT and MRI characteristics of special types of accessory spleen

Jun-Hong Peng, Song Liu, Li-Hua Zhou, Jun-Lin Guo, Hui-Ming Wang

Jun-Hong Peng, Song Liu, Li-Hua Zhou, Jun-Lin Guo, Hui-Ming Wang, Department of Radiology, Puai Hospital, Wuhan 430034, Hubei Province, China
Correspondence to: Jun-Hong Peng, Associate Chief Physician, Department of Radiology, Puai Hospital, 3 Gutian Road, Qiaokou District, Wuhan 430034, Hubei Province, China. 513537466@qq.com
Received: 2013-01-15 Revised: 2013-02-23
Accepted: 2013-03-15 Published online: 2013-04-08

Abstract

AIM: To explore the computed tomography (CT) and magnetic resonance imaging (MRI) imaging features of accessory spleen in special location.

METHODS: CT and MRI imaging data for five patients diagnosed pathologically with accessory spleen were analyzed retrospectively.

RESULTS: Accessory spleen was located in the pancreas in 3 cases, in the peripancreatic in 1 case, and around the left kidney in 1 case. Three accessory spleens in the pancreas showed round-like soft tissue nodules at the tail of the pancreas, which were similar to the main spleen in non-enhanced CT and MRI scans, and consistent with the main spleen in enhanced scans. Of these three cases, one had unclear boundary on plain CT and enhanced CT, but had clear boundary on MRI. CT density and MRI sequence of accessory spleens around the pancreas and left kidney were similar to the main spleen, and their blood supply was provided by the small branch of the splenic artery and the left renal artery. Enhanced CT and MRI showed heterogeneous enhancement in the arterial phase, whose degree was weaker than that of the main spleen, and homogeneous enhancement in the venous and delayed phase, whose degree was consistent with that of the main spleen.

CONCLUSION: A definite diagnosis of accessory spleen can be made in most cases, because most of them have typical imaging findings and locations. Accessory spleens that are located in special sites or have special blood supply are easily misdiagnosed, although they have typical CT and MRI imaging features.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Special location; Blood supply; Accessory spleen; Computed tomography; Magnetic resonance imaging

Peng JH, Liu S, Zhou LH, Guo JL, Wang HM. CT and MRI characteristics of special types of accessory spleen. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(10): 925-930 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/925.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i10.925

摘要

目的: 探讨位于特殊部位及特殊血供的副脾的计算机断层扫描(computed tomography, CT)及磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)影像特征.

方法: 对5例经手术证实的副脾患者的CT及MRI资料进行回顾性分析.

结果: 5例病例均为单发, 位于胰腺内3例, 胰周1例, 左肾周1例. 3例位于胰腺内的副脾均表现为位于胰尾部的类圆形软组织结节影, 平扫CT密度及MRI各序列与主脾相似, 强化程度与主脾一致, 其中1例于CT平扫及增强上边界显示不清, 于MRI上边界显示清晰. 位于胰周及左肾周者副脾平扫CT密度及MRI各序列与主脾相似, CTA示分别由脾动脉小分支及左肾动

■背景资料
副脾是一种先天性异位脾组织, 通常无症状、无需处理. 但当副脾位于非典型部位时常易误诊为其他疾病, 亦有报告血液病患者脾切除术后因副脾的增生而再行腹腔镜副脾切除, 而进行了不必要的手术.

■同行评议者
李胜, 研究员, 山东省肿瘤防治研究院肝胆外科

■研发前沿
虽然位于非典型部位的副脾极易误诊, 但是大部分通过动态增强CT或MRI可以诊断, 而不需进一步的有创检查. 有报道表明SPIO增强及DWI有助于诊断.

脉供血, 增强CT表现及MRI均表现为动脉期花斑状不均匀强化, 强化程度较主脾弱, 静脉期及延迟期呈均匀强化, 强化程度与主脾一致.

结论: 大部分副脾有典型的影像学表现及发生部位, 多可以做出明确诊断, 特殊部位及特殊血供的副脾虽易造成误诊, 但CT及MRI平扫及动态增强仍具有典型的表现.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 特殊部位; 血供; 副脾; CT; 磁共振成像

核心提示: 特殊部位及特殊血供的副脾虽易造成误诊, 但CT及MRI平扫及动态增强仍具有典型的表现.

彭俊红, 刘松, 周利华, 郭俊林, 王慧明. 特殊副脾的CT与MRI征象. 世界华人消化杂志 2013; 21(10): 925-930 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/925.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i10.925

0 引言

副脾是指正常位置的脾脏之外, 尚有1个至多个与脾脏结构相似、功能相同的组织器官. 多数人的副脾出生后即消失, 临床上副脾的发生率为10%-30%[1]. 随着对脾脏解剖生理研究的深入, 尤其是血液病脾切除治疗经验、教训的总结, 以及临床上将副脾误诊为其他疾病的情况时有发生, 人们对副脾的重要性日渐认识.

1 材料和方法

1.1 材料 搜集2011-01/2012-08经手术证实的副脾患者5例, 其中男3例, 女2例, 年龄39-66岁. 5例中, 2例因上腹部不适症状就诊时发现肿块, 肿瘤标志物CEA、CA125及CA199均无明显异常. 3例为体检发现, 无明显阳性体征, 实验室检查无明显异常. 5例均手术切除, 手术切除标本经病理检查证实.

1.2 方法 5例病例均行计算机断层扫描(computed tomography, CT)及磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)平扫及增强扫描. CT检查使用东芝Aquilion 16排CT进行上腹部常规螺旋扫描, 管电压: 120 kV, 管电流: 200 mA, 螺距15.0, 增强扫描, 以2.5 mL/s的流速高压注射90 mL对比剂(三代显)后行3期动态扫描. MRI扫描使用飞利浦1.5TMRI机, 常规行使轴位T1WI-SE (TR 176.2 ms, TE 4.6 ms), T2WI-FSE(TR 1 200 ms, TE 80 ms), T2WISPAIR(TR 1 200 ms, TE 80 ms), MRI扩散加权成像(diffusion-weighted MR imaging, DWI)(TR 1 304 ms, TE 63.9 ms), 层厚7.0 mm, 层距8.0 mm. 增强扫描, 以2.5 mL/s的流速高压注射(0.3 mL×体质量)的Gd-DTPA及25 mL生理盐水进行3期动态扫描.

2 结果

5例病例均为单发, 最大者直径约5.1 cm. 5例病例中位于胰腺内3例, 胰周1例, 左肾周1例.

3例位于胰腺内的副脾, 均表现为位于胰尾部的类圆形软组织结节影, 最大值直径约1.7 cm. CT平扫密度与主脾相似, 较胰腺组织为稍高密度, 增强呈均匀强化, 强化程度与主脾相似. 其中1例于CT平扫及增强上边界显示不清(图1). 3例MRI扫描图像与胰腺相比呈长T1、T2WI-SPAIR序列高信号, 而各序列信号均与主脾一致, 边界清晰, MRI增强呈明显强化, 强化程度与主脾一致(图2).

位于胰周及左肾周者副脾, 最大径分别为5.1、4.9 cm, 表现为类圆形软组织肿块影. 平扫CT密度及各序列MRI信号均与主脾一致. CTA示分别由脾动脉小分支及左肾动脉供血. 增强CT表现及MRI均表现为动脉期花斑状不均匀强化, 强化程度较主脾弱, 静脉期及延迟期呈均匀强化, 强化程度与主脾一致(图3, 4).

3 讨论

副脾是与脾脏结构相似、功能相同的一种先天性异位脾组织. 临床上副脾的发生率为10%-30%[1-3]. 副脾的发生与间质细胞融合缺乏有关, 可能是脾胚胎多基因发育的缘故, 可与正常的脾脏完全分离, 或有结缔组织相连, 最常位于脾门或邻近胰尾处, 但也可位于脾血管旁、脾胃韧带和脾肾韧带内, 少见于胰腺组织内[3-6], 本文即有3例副脾位于胰腺组织内. 文献亦有报道副脾出现在胆囊、阴囊和卵巢等之内[6-10]. 脾脏是人体最大的外周淋巴器官, 具有重要的免疫功能和储血等功能, 一旦切除机体免疫功能将受影响, 甚者出现爆发性感染, 副脾因组织结构与脾脏相似, 故而与脾脏具有相同的功能, 有研究表明脾切除术后保留副脾对维持人体免疫力有代偿作用[11,12]. 故脾破裂、门静脉高压症和脾良性肿瘤切除时, 应留心是否有副脾存在并予以保留, 以部分弥补脾脏缺失后的免疫、储血等功能[13].

血液系统疾病中副脾出现率高达30%, 血液

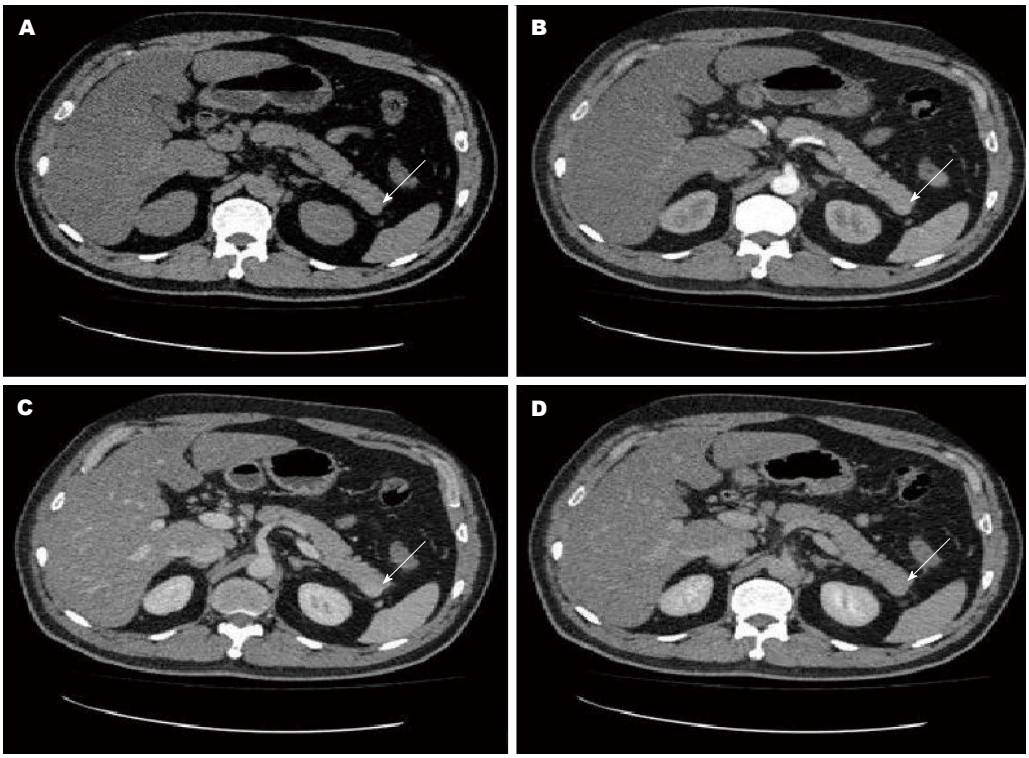


图 1 胰尾部副脾. A: CT平扫示胰尾内似见一直径约1.7 cm的类圆形软组织结节影(箭头), 平扫密度与主脾相似, 边界显示不清; B-D: CT增强示胰尾病灶(箭头)呈均匀强化, 强化程度与主脾相似, 边界显示不清.

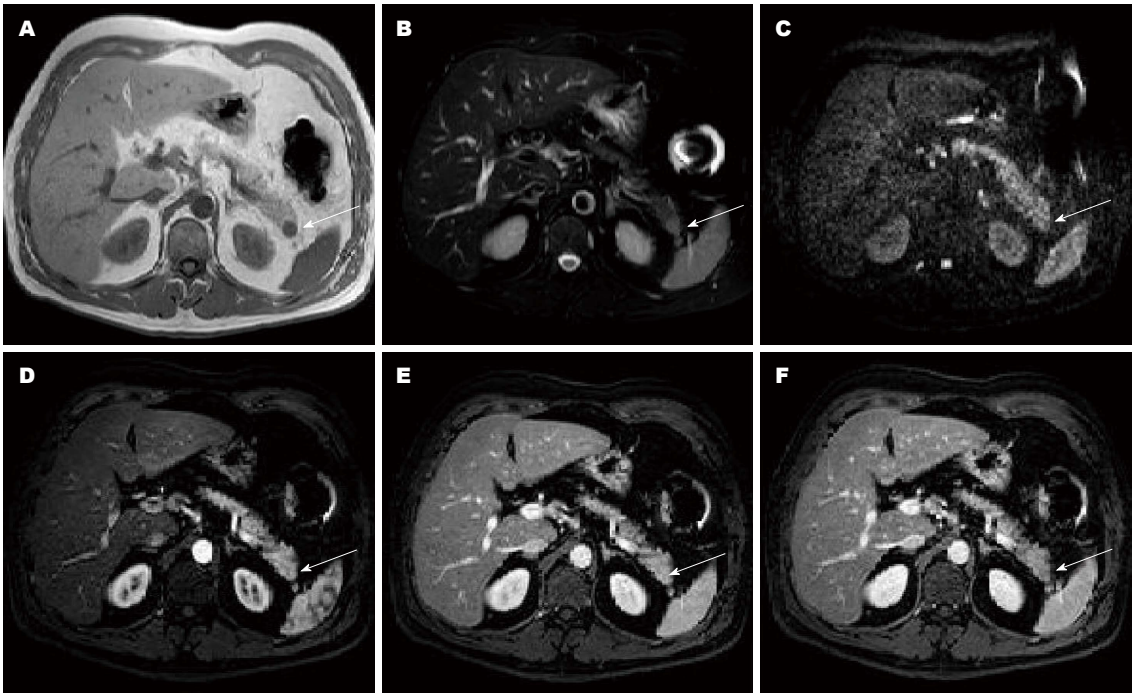


图 2 胰尾部副脾. A: FSIT1WI示胰尾内结节状低信号影(箭头), 信号与脾脏一致, 边界清晰; B: T2WISTIR示胰尾内结节状高信号影(箭头), 信号与脾脏一致, 边界清晰; C: DWI示胰尾内病灶(箭头)显示不清; D-F: MRI动态增强示胰尾内部病灶(箭头)呈明显强化, 强化程度与主脾一致.

病需要切脾的患者, 术前应进行有关影像学检查, 以事先了解是否存在副脾及其部位和数目. 术中应尽量寻找副脾并予以切除, 如若遗漏或未切净, 则副脾可能增生取代脾脏功能, 致使原发病症状复发, 尤其是遗传性球形红细胞增多症(hereditaryspherocytosis, HS)、特发性血小板减少性紫癜(idiopathic thrombocytopenic purpura, ITP)和自身免疫性溶血性贫血(autoimmune he-

■相关报道
当副脾位于非典型部位时极易被误诊, 而造成不必要的手术.

■应用要点
本文总结了特殊副脾的CT及MRI平扫及动态增强的特点, 以提高副脾的诊断率.

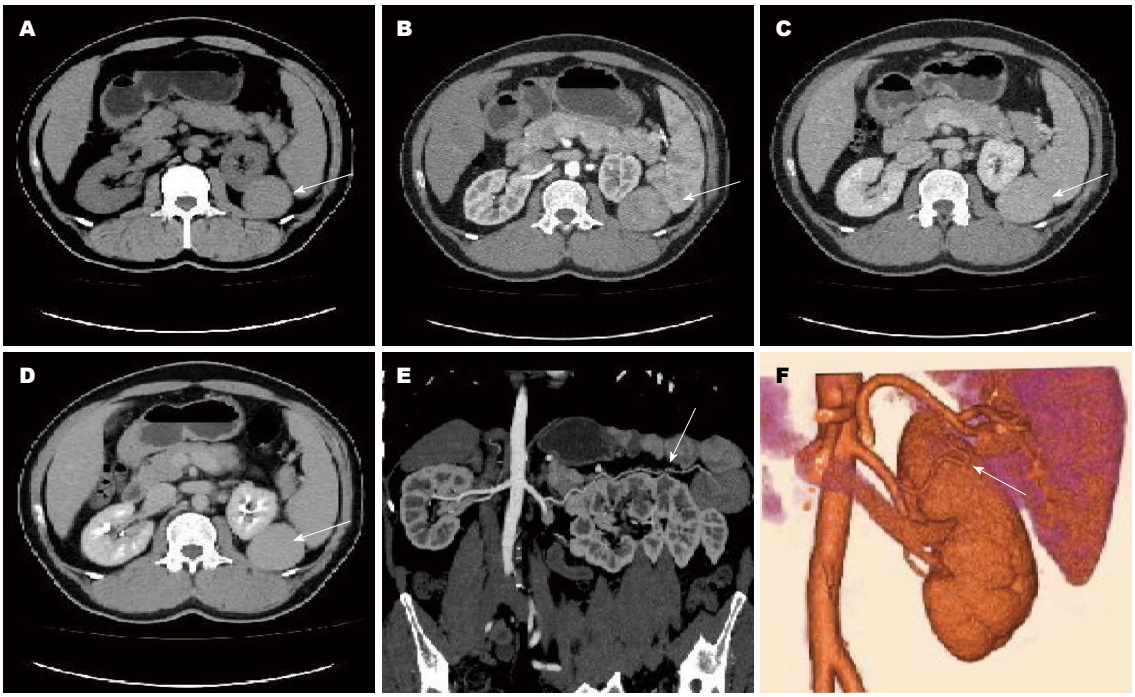


图 3 左肾周副脾. A: CT平扫示左肾周见一直径约4.9 cm的类圆形软组织肿块影(箭头), 密度与主脾一致; B: 增强动脉期示左肾周病灶(箭头)不均匀强化, 强化程度较主脾稍弱; C, D: 静脉期及延迟期示病灶(箭头)呈均匀强化, 强化程度与主脾一致; E, F: CTA示病灶(箭头)由左肾动脉供血.

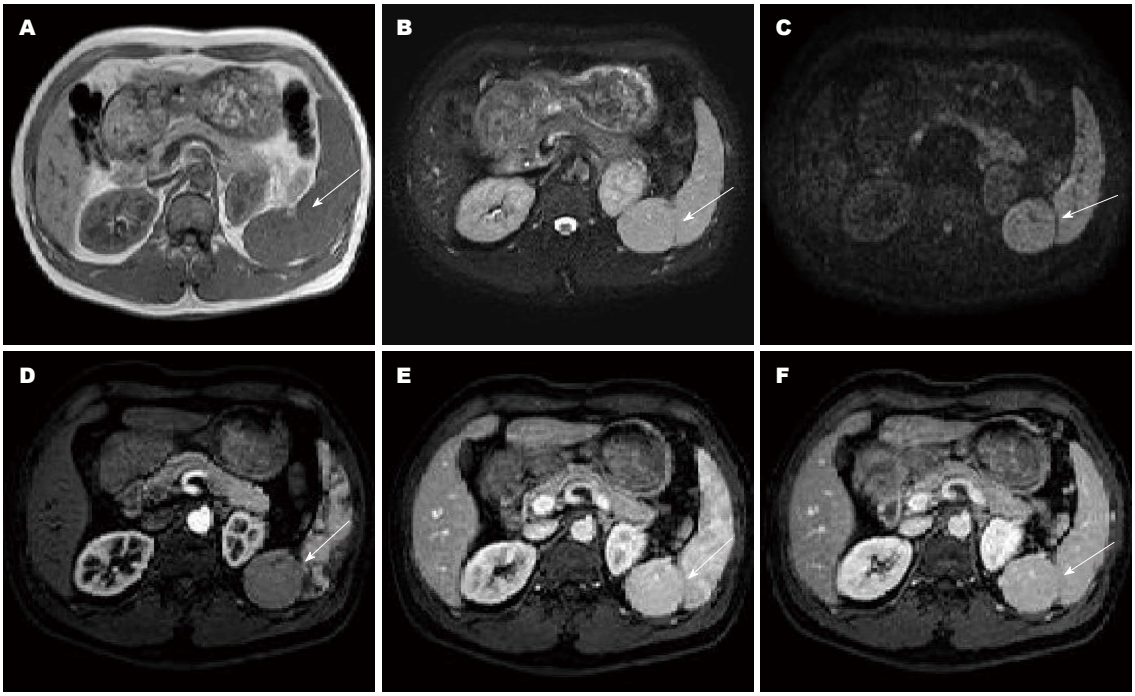


图 4 左肾周副脾. A: FSET1WI示左肾周类圆形低信号影(箭头), 信号与脾脏一致, 边界清晰; B, C: T2WISTIR及DWI序列示左肾周类圆形高信号影(箭头), 信号与脾脏一致, 边界清晰; D: MRI动态增强动脉期示左肾周病灶(箭头)不均匀轻度强化, 强化程度较主脾弱; E, F: 静脉期及延迟期示病灶(箭头)呈明显均匀强化, 强化程度与主脾一致.

molytic anemia, AIHA)患者更应注意[14-17].

大多数副脾具有典型的影像学表现, 但是当副脾位于少见部位时极易误诊, 例如当副脾位于胰腺内时, 常易误认为胰腺神经内分泌肿瘤(常见为胰岛素瘤)、实性假乳头状瘤或胰腺癌等[18,19], 位于其他少见部位或副脾较大时, 常易误诊为相应部位肿瘤[20-23], 而进行不必要的手术.

本组3例位于胰尾部的副脾均因术前误诊为胰腺肿瘤而导致了不必要的手术. 回顾分析3例病例的CT及MRI影像资料并结合文献[5,6,18-23], 可发现其共同性: 均表现为胰尾部较小的类圆形结节影, CT及MRI平扫病灶密度及各序列信号与脾脏相似, MRI因组织间信号差异而使病灶边界显示清晰, 动态增强强化方式及程度与脾脏一致, 作者考虑与胰尾部血供有关(由脾动脉走行中发出的多条细小胰支供血). 有文献报道[24,25], 在超顺磁氧化物颗粒(superparamagnetic iron oxide, SPIO)-增强, T2WI像上,病灶信号下降程度与脾脏一致, 这种定量分析的结果与主观的分析结合起来, 可以更明确诊断副脾, 从而与其他疾病相鉴别. Jang等[26]报道了, 除了传统的形态学MRI成像, DWI序列可以作为鉴别胰腺内副脾与胰腺内实性肿瘤的工具之一: 胰腺内副脾与脾脏相比的表观弥散系数(apparent diffusion coefficient, ADC)比值(在b值分别为0、100、800 s/mm^{2}时)较胰腺内实性肿瘤与脾脏相比的ADC比值更接近于0.

副脾有单独的血液供应, 大多数副脾血供来自脾动脉, 但是部分副脾并非脾动脉供血, 非由脾动脉供血的副脾CT或MRI增强可与脾脏强化不一致[23], 而易造成误诊. 本组位于肾周的副脾, 可见为左肾动脉供血, CT及MRI增强动脉期与脾脏强化不一致, 从而误诊为肾脏肿瘤, 而进行了不必要的手术. 回顾分析其CT及MRI影像资料, 发现其动脉期强化程度虽低于脾脏, 但仍可见花斑状强化, 静脉期及延迟期呈均匀强化, 强化程度与脾脏一致, 仍具有典型的表现.

另一例位于胰周的较大副脾, 虽由脾动脉分支供血, 但CT及MRI增强动脉期与脾脏强化亦不一致, 强化程度弱于脾脏, 此种情况文献并未对此有报道, 作者考虑可能为副脾较大且供血分支细小的原因. 而其静脉期及延迟期则呈均匀强化, 强化程度与脾脏一致.

总之, 为了减少因误诊而造成的不必要的手术及提高脾切除治疗患者的成功率, 应提高副脾的诊断率. 大部分副脾有典型的影像学表现及发生部位, 多可以做出明确的诊断. 特殊部位及特殊血供的副脾易造成误诊, 但CT及MRI仍具有典型的表现: 当一个孤立的结节或肿块(特别是无症状, 实验室无异常时), 具有与脾脏相同的CT密度及MRI信号, 动态增强时具有与脾脏相同的强化方式、相同或不同的强化程度时应考虑到副脾的可能. CTA有助于显示副脾供血血管, 对其增强表现的分析有一定的帮助. MRI因组织间信号差异而能更清楚的显示病灶边界. SPIO-增强及DWI成像序列有助于副脾与其他疾病的鉴别[24-26].

4 参考文献

1 Halpert B, Gyorkey F. Lesions observed in accessory spleens of 311 patients. *Am J Clin Pathol* 1959; 32: 165-168 [PMID: 13670140]
2 Romer T, Wiesner W. The accessory spleen: prevalence and imaging findings in 1,735 consecutive patients examined by multidetector computed tomography. *JBR-BTR* 2012; 95: 61-65 [PMID: 22764656]
3 Wadham BM, Adams PB, Johnson MA. Incidence and location of accessory spleens. *N Engl J Med* 1981; 304: 1111 [PMID: 7207579]
4 Ungör B, Malas MA, Sulak O, Albay S. Development of spleen during the fetal period. *Surg Radiol Anat* 2007; 29: 543-550 [PMID: 17671754]
5 Cazejust J, Derhy S. Intrapancreatic accessory spleen located within the tail of the pancreas. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2012; 36: 517-518 [PMID: 23137755 DOI: 10.1016/j.clinre.2012.08.010]
6 Guo W, Han W, Liu J, Jin L, Li JS, Zhang ZT, Wang Y. Intrapancreatic accessory spleen: a case report and review of the literature. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 1141-1143 [PMID: 19266611]
7 朱正宣, 任敏. 胆囊底部粘膜下副脾1例. 肝胆外科杂志 2010; 18: 72
8 陈亚丽, 裴新平. 先天性阴囊内副脾1例的超声表现. 中国临床医学影像杂志 2006; 17: 97
9 杨玉杰, 初悦美. 副脾误诊为卵巢肿瘤一例. 临床误诊误治 2008; 21: 84
10 Cowles RA, Lazar EL. Symptomatic pelvic accessory spleen. *Am J Surg* 2007; 194: 225-226 [PMID: 17618809 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2006.11.023]
11 詹慧春, 徐早华, 曾卫华, 丁华民, 傅华群. 保脾手术治疗外伤性脾破裂36例. 世界华人消化杂志 2012; 20: 3394-3396
12 韩要法. 脾切除保留副脾十例的临床观察. 中华普通外科杂志 2004; 19: 500-501
13 韦军民. 副脾的诊断处理及相关问题. 中国医刊 2006; 41: 11-12
14 Asatova MM. [Toxoplasmosis as cause of hydrocephalus (case report of congenital toxoplasmosis)]. *Akush Ginekol* (Mosk) 1991; (12): 54-55 [PMID: 1789350 DOI: 10.1097/SLA.0b013e318155abb9]
15 Pace DE, Chiasson PM, Schlachta CM, Mamazza J, Poulin EC. Laparoscopic splenectomy for idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP). *Surg Endosc* 2003; 17: 95-98 [PMID: 12360373 DOI: 10.1007/s00464-002-8805-y]
16 Antevil J, Thoman D, Taller J, Biondi M. Laparoscopic accessory splenectomy with intraoperative gamma probe localization for recurrent idiopathic thrombocytopenic purpura. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 2002; 12: 371-374 [PMID: 12409709 DOI: 10.1097/00129689-200210000-00015]
17 Velanovich V, Shurafa M. Laparoscopic excision of accessory spleen. *Am J Surg* 2000; 180: 62-64 [PMID: 11036144 DOI: 10.1016/S0002-9610(00)00417-7]
18 Loureiro AL, Ferreira AO, Palmeiro M, Penedo JP. Intrapancreatic accessory spleen: a misleading diagnosis. *BMJ Case Rep* 2013; 2013 [PMID: 23389723

■名词解释

超顺磁氧化物颗粒: MRI网状内皮细胞性对比剂, 其颗粒直径为40-400 μm, 表面用葡聚糖包裹, 由于血液中直径在30-5 000 nm的颗粒主要经网状内皮系统清除, 因而静脉注射后该类对比剂进入肝脏及脾脏的网状内皮细胞, 产生缩短T2效应.

■同行评价
本文内容较为重要, 对临床具有一定的指导意义.

DOI: 10.1136/bcr-2012-008471]
19 Kwon YJ, Park HK, Lee KG. Misdiagnosis of intrapancreatic accessory spleen as an endocrine tumor of the pancreatic tail. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012; 10: A27-A28 [PMID: 22796250 DOI: 10.1016/j.cgh.2012.06.018]
20 贾其磊, 岳中瑾, 侯子诊, 峻岩, 郗新生. 脾切除术后副脾误诊为腹膜后肿瘤1例. 临床泌尿外科杂志 2008; 23: 99
21 吕文平, 董家鸿, 黄志强, 黄晓强, 张文智. 副脾误诊为肿瘤的四例原因分析. 中华普通外科杂志 2007; 22: 469-470
22 殷薇薇, 李建策, 丛振杰, 罗小平, 袁湘芝, 杨开颜. 副脾的CT诊断与误诊原因分析. 放射学实践 2007; 22: 833-835
23 石结武, 周林玉, 诸禹平, 谈宜傲, 杨栋梁, 郝天春. 副脾的临床诊断与误诊原因分析. 安徽医药 2011; 15: 176-178
24 Kim SH, Lee JM, Han JK, Lee JY, Kang WJ, Jang JY, Shin KS, Cho KC, Choi BI. MDCT and superparamagnetic iron oxide (SPIO)-enhanced MR findings of intrapancreatic accessory spleen in seven patients. *Eur Radiol* 2006; 16: 1887-1897 [PMID: 16547707 DOI: 10.1007/s00330-006-0193-6]
25 Herédia V, Altun E, Bilaj F, Ramalho M, Hyslop BW, Semelka RC. Gadolinium- and superparamagnetic-iron-oxide-enhanced MR findings of intrapancreatic accessory spleen in five patients. *Magn Reson Imaging* 2008; 26: 1273-1278 [PMID: 18440173 DOI: 10.1016/j.mri.2008.02.008]
26 Jang KM, Kim SH, Lee SJ, Park MJ, Lee MH, Choi D. Differentiation of an intrapancreatic accessory spleen from a small (& lt; 3-cm) solid pancreatic tumor: value of diffusion-weighted MR imaging. *Radiology* 2013; 266: 159-167 [PMID: 23093681 DOI: 10.1148/radiol.12112765]

编辑 田滢 电编 闫晋利

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2013年4月8日; 21(10): 931-935
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

小肠黏液样脂肪肉瘤的临床病理特点

方三高, 马 强, 马 瑜, 李艳青, 曾 英, 肖华亮

方三高, 马强, 马瑜, 李艳青, 曾英, 肖华亮, 中国人民解放军第三军医大学大坪医院野战外科研究所病理科 重庆市 400042
方三高, 主治医师, 主要从事消化系肿瘤病理的相关研究.
作者贡献分布: 此课题由方三高与肖华亮设计; 研究过程由方三高、马强、马瑜、李艳青及曾英完成; 图片由方三高与马强采集; 临床资料采集由方三高、马强及马瑜完成; 本论文写作由方三高完成.
通讯作者: 方三高, 主治医师, 400042, 重庆市渝中区大坪长江支路10号, 中国人民解放军第三军医大学大坪医院野战外科研究所病理科. fangsangaode@163.com
电话: 023-68757649
收稿日期: 2012-08-27 修回日期: 2013-01-10
接受日期: 2013-03-14 在线出版日期: 2013-04-08

Clinicopathologic features of myxoid liposarcoma of the small intestine

San-Gao Fang, Qiang Ma, Yu Ma, Yan-Qing Li, Ying Zeng, Hua-Liang Xiao

San-Gao Fang, Qiang Ma, Yu Ma, Yan-Qing Li, Ying Zeng, Hua-Liang Xiao, Department of Pathology, Institute of Surgery, Daping Hospital, the Third Military Medical University, Chongqing 400042, China
Correspondence to: San-Gao Fang, Attending Physician, Department of Pathology, Institute of Surgery, Daping Hospital, the Third Military Medical University, Chongqing 400042, China. fangsangaode@163.com
Received: 2012-08-27 Revised: 2013-01-10
Accepted: 2013-03-14 Published online: 2013-04-08

Abstract

AIM: To investigate the clinicopathologic characteristics of primary myxoid liposarcoma (MLS) of the small intestine.

METHODS: One case of MLS of the small intestine was reported, and its morphological features, differential diagnosis and prognosis were analyzed by reviewing the relevant literature.

RESULTS: A 60-year-old female was admitted for acute bowel obstruction. A CT scan revealed a solitary, hypodense submucosal mass in the terminal ileum. Grossly, the tumor was round in shape, pale-yellow in color, and 5 cm large, with a well-defined margin but partly with severe mucosal erosion. The mass was located in the intramural portion, protruded into the mucosa and caused acute ileal intussusception. Histologically, the tumor was composed predominantly of myxoid stroma and of small amounts of mature lipocyte-like cells that were supported by rich thin arborizing vasculature and delicate fibrous septa. Some multi vacuolated lipoblasts were scattered in pink or cloudy myxoid matrix that showed a "pulmonary edema-like" pattern. Immunohistochemically, the neoplastic cells were positive for S-100, but negative for CD117 and CD34. The mass was resected, and no recurrence or metastasis was found 14 mo after local excision.

CONCLUSION: Primary MLS of the small intestine is a rare, well-differentiated neoplasm that has a good prognosis if managed properly. Full recognition of its histopathologic features is helpful to the diagnosis of this rare condition.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Small intestine neoplasms; Myxoid liposarcoma; Clinicopathology; Immunohistochemistry; Differential diagnosis

Fang SG, Ma Q, Ma Y, Li YQ, Zeng Y, Xiao HL. Clinicopathological features of myxoid liposarcoma of the small intestine. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(10): 931-935
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/931.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i10.931

摘要

目的: 探讨研究小肠黏液样脂肪肉瘤的临床病理特征.

方法: 结合文献对1例小肠黏液样脂肪肉瘤进行形态学观察并分析其鉴别诊断及预后.

结果: 女, 60岁, 以急性肠梗阻收住. CT扫描见回肠末端黏膜下实性低密度肿块. 大体检查: 肌壁间灰黄色圆形肿物大小约5.0 cm, 突向黏膜导致急性肠套叠, 肿物边界清楚但部分肠黏膜显著糜烂. 形态学显示肿瘤由大量的黏液样间质和成熟性脂肪细胞样细胞组成, 其间可见丰富的分支状薄壁血管及纤细的纤维间隔支撑. 黏液样间质呈粉色或云雾状, 宛如"肺水肿"样, 少许多泡性脂肪母细胞散布其中. 免

■背景资料
黏液样脂肪肉瘤主要见于腹膜后和四肢皮下, 发生于小肠的极为罕见, 目前国外仅报道21例, 国内尚未见报道. 临床医生和病理医生对小肠黏液样脂肪肉瘤的临床病理特征认识不足, 容易误诊.

■同行评议者
郭炜, 教授, 河北医科大学第四医院河北省肿瘤研究所病理研究室

■研发前沿
罕见疾病是个点，而鉴别诊断是个面. 本文对1例小肠黏液样脂肪肉瘤的临床资料、病理形态学特征及免疫表型进行总结，并审阅相关文献，分析其形态学特征，重点探讨其病理诊断及鉴别诊断.

疫组织化学检查: 肿瘤细胞S-100呈阳性表达而CD34及CD117均为阴性. 局部手术切除后随访10 mo, 未见肿瘤复发或转移.

结论: 小肠黏液样脂肪肉瘤为罕见的恶性肿瘤, 分化程度高, 如处置得当, 预后良好. 充分认识其组织病理学特点有助于确诊.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 小肠肿瘤; 黏液样脂肪肉瘤; 临床病理; 免疫组织化学; 鉴别诊断

核心提示: 黏液样脂肪肉瘤(myxoid liposarcomas, MLS)好发于年青人四肢深部软组织. 迄今为止, 文献仅报道4例小肠MLS. 本文研究了1例, 患者为老年女性. 其组织学显著特点在于肿瘤细胞呈圆形或卵圆形, 与小的印戒细胞样脂肪母细胞混合, 间质富于黏液, 可见特征性的分支状毛细血管. 需要与脂肪瘤, 黏液型胃肠间质瘤相鉴别.

方三高, 马强, 马瑜, 李艳青, 曾英, 肖华亮. 小肠黏液样脂肪肉瘤的临床病理特点. 世界华人消化杂志 2013; 21(10): 931-935 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/931.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i10.931

0 引言

小肠原发性黏液样脂肪肉瘤十分罕见, 自1957年Atik等[1]首次描述以来, 经查英文文献报道4例[2-5], 国内仅见个案报道. 由于发病率极低, 认识不足, 形态特点不明显, 临床及病理易误诊为良性病变如脂肪瘤等. 本研究观察了1例小肠原发性黏液样脂肪肉瘤, 分析其临床表现、形态学改变及免疫组织化学表达, 结合文献重点探讨其病理诊断及鉴别诊断.

1 材料和方法

1.1 材料 女, 60岁. 腹痛、腹胀5 d, B超发现回肠末端肠管内卵圆形肿块, 门诊以“回肠末端肿瘤合并肠梗阻”收住. 于2011-10-07行全麻下剖腹探查. 术中见回肠末端距回盲瓣30.0 cm处黏膜下实性类圆形包块, 完全阻塞肠腔, 引起部分回肠顺行单式套叠约10.0 cm, 肿块表面回肠黏膜形成溃疡, 浆膜充血水肿. 腹腔探查无腹水, 肝脾及盆腔未见异常, 淋巴结无肿大. 遂切除套叠部肿块及上下各约10.0 cm的小肠. 病理检查: 回肠有一无蒂肿物突入肠腔, 大小约5.0 cm×4.0 cm×4.0 cm, 表面黏膜粗糙、糜烂. 肿物位于肌壁间, 切面淡黄灰白相间, 质软, 边界清楚.

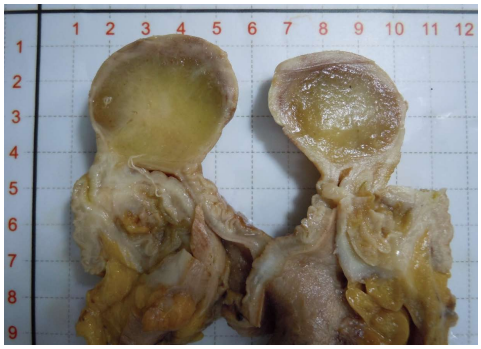


图 1 小肠黏液样脂肪肉瘤大体所见. 卵圆形肿块突向肠腔, 切面淡黄色.

病理报告: 送检回肠肠壁软组织肿瘤, 伴明显黏液样背景, 可见脂肪母细胞样细胞, 结合免疫组织化学, 形态符合黏液样脂肪肉瘤, 伴回肠溃疡形成(病理号码: 1121355).

1.2 方法 标本经40 g/L甲醛固定, 常规脱水, 石蜡包埋, 4 μm厚切片, HE染色, 光镜观察. 免疫组织化学采用EnVision法. 所选一抗S-100(多克隆)、S-100(单克隆)、vimentin、CK、CD34、CD117、Dog-1、SMA、desmin、calponin、h-caldesmon、Ki-67和二抗分别购自福州迈新公司和北京中杉金桥公司. 操作步骤按照试剂盒说明书进行. 用PBS代替一抗作空白对照. 阳性细胞数占总细胞数的比例>10%时即判为阳性. Ki-67胞膜或胞核阳性, 其余抗体胞膜或胞质阳性.

2 结果

2.1 病理检查

2.1.1 巨检: 肠管一段, 长13.0 cm, 直径3.0-4.0 cm, 部分肠管外翻, 距一侧切缘3.0 cm处可见一卵圆形肿物, 大小5.0 cm×4.5 cm×3.0 cm, 主要位于肌壁间向黏膜面膨胀性生长, 突向肠腔几乎完全阻塞肠管, 但并不像一般肠癌那样固定、质硬, 而是可推移. 与肿块毗邻的部分小肠黏膜重度糜烂, 覆盖脓苔. 切面淡黄色或灰白色, 质软, 有黏滑感(图1).

2.1.2 镜检: 镜下特点: (1)肿瘤位于黏膜下, 部分表面坏死(图2A); (2)脂肪源性肿瘤特有的分叶状结构不明显, 主要由弥漫性黏液样间质、散在诊断性脂肪母细胞及较成熟的肿瘤性脂肪细胞构成, 脂肪母细胞呈卵圆形或星形, 核端可见月牙形空泡, 呈印戒细胞状(图2B); (3)丰富的分支状毛细血管及纤细的纤维间隔互联成网, 较大的血管仅由一层内皮细胞构成, 形成“鸡爪样”或“鹿角状”(图2C), 具有形态学诊断价

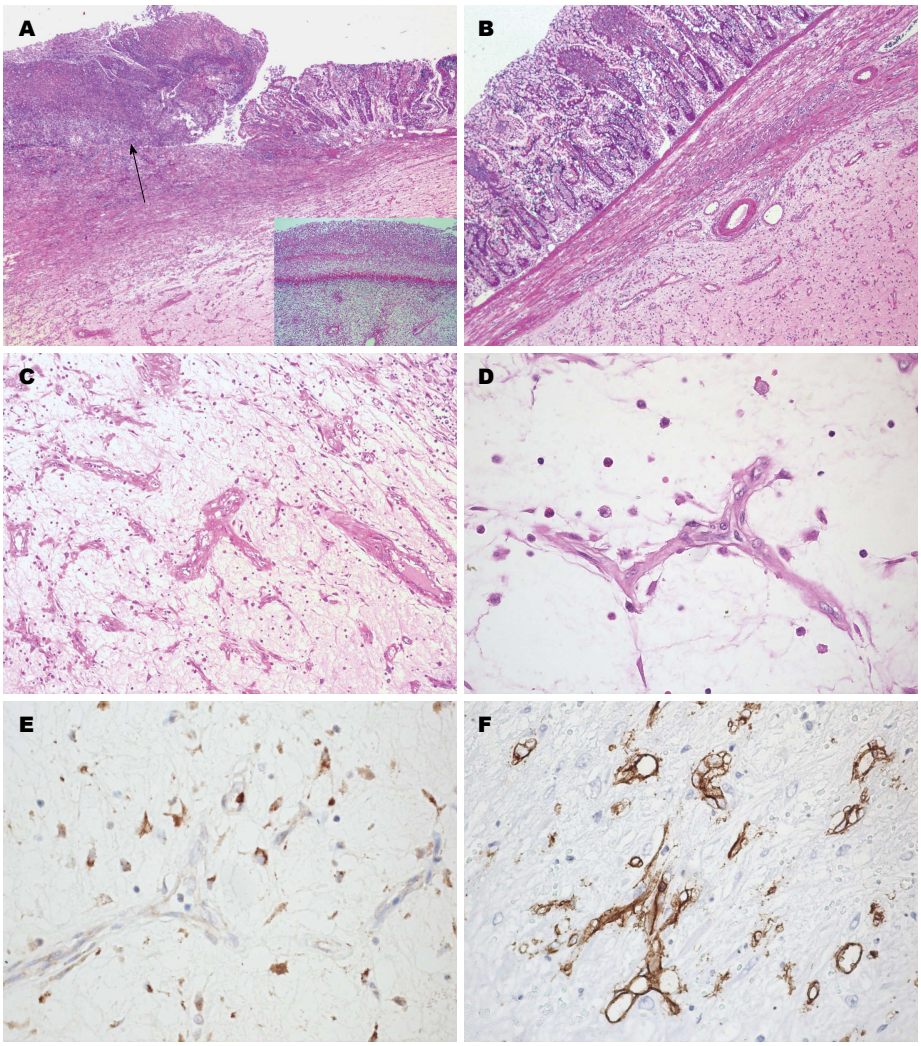


图 2 小肠黏液样脂肪肉瘤的病理组织学表现. A: 肿瘤表面黏膜糜烂, 覆有坏死物(HE, ×100); B: 黏膜下肿块间质富含分支状血管(HE, ×200); C: 粉色黏液样间质类似肺水肿(HE, ×200); D: 在薄壁“鸡爪样”血管背景中可见脂肪母细胞,异型性不明显(HE, ×400); E: 肿瘤细胞表达S-100(EnVision, ×400); F: 但不表达CD34, 而周围血管呈阳性(EnVision, ×400).

■应用要点
病理标本的大体所见非常重要, 对特殊病例诊断者最好亲自取材, 仔细观察. 对脂肪源性肿瘤应借助于特殊染色、免疫组织化学标记、分子病理学检查甚至电镜后方可做出恰当的诊断.

值; (4)肿瘤富含黏液样基质, 云雾状或淡粉色, 弥漫成片形成黏液池, 类似“肺水肿样”改变(图2D).

2.1.3 免疫组织化学: S-100(多克隆)(图2E)、S-100(单克隆)、vimentin及CD68阳性, CD34(瘤细胞阴性而血管阳性)(图2F)、CK、SMA、desmin、calponin、h-caldesmon、CD117、Dog-1均阴性. Ki-67约5%(+).

3 讨论

脂肪肉瘤(liposarcoma, LS)于1857年由病理学先驱Virchow氏首先报道[6]. 2013年WHO软组织和骨肿瘤分类中, 分为去分化脂肪肉瘤、黏液样脂肪肉瘤、多形性脂肪肉瘤及脂肪肉瘤(非其他特殊型)4种类型. 其中黏液样脂肪肉瘤(myxoid liposarcomas, MLS)为最多见的类型, 约占脂肪肉瘤的15%-20%[7].

目前认为脂肪肉瘤并非起源于脂肪细胞, 而是起源于原始间叶肿瘤性脂肪干细胞. 根据细胞形态, 大致可分为脂源性或非脂源性两种成份, 两者在不同的病例或同一肿瘤的不同区域及不同切面所占比例各不相同, 但数量不等的脂肪母细胞始终为脂源性成分所特有, 并且成为脂肪肉瘤组织学诊断的重要依据. 这种脂肪母细胞呈单核或多核, 富含脂质空泡, 大小不一, 小者胞核可被空泡推至一侧呈印戒状, 大者核位于中央, 被多数小空泡挤成锯齿状或花蕾样, 犹如肥胖的皮脂腺细胞. 而非脂源性成分如纤维, 血管、神经等可因外伤、缺血和继发感染而引起出血、梗死、纤维化、钙化、囊性变和炎症反应等, 使其形态多变, 给组织学诊断带来困难.

发生于小肠的脂肪肉瘤很少见. 文献报道多见于年龄相对较轻的中年人[8], 一般呈膨胀性推进式生长, 恶性程度较低. 如果部位隐匿, 发现时往往已长至巨大, 引起肠梗阻或肠扭转, 若侵及肠壁可导致黏膜溃疡、消化道出血及继发性贫血. 有时肿瘤坏死、溃破可引起急性腹膜炎. 后期患者往往出现明显消瘦和恶液质. 本例瘤体较大, 肿瘤位于小肠黏膜下向肠腔内生长, 发

■同行评价
本文内容实用, 图片精美, 鉴别诊断详细, 有一定的指导意义.

生肠套叠引起肠梗阻才来就诊. 如果肿块位于非重要部位如肠系膜或腹腔, 仅引起压迫症状, 更难以早期发现. 术前临床诊断为脂肪瘤, 大体取材见肿块覆盖的回肠黏膜形成溃疡, 部分切面呈灰白色而非黄色, 引起警觉并补充取材. 镜下最可靠的诊断依据是脂肪母细胞, 呈星形及小梭形, 有程度不同的异型性, 散在于具有黏液背景的丛状毛细血管网络中.

黏液样脂肪肉瘤常位于下肢深部, 肿块一般较大, 肉眼变化肿瘤有包膜或假包膜, 界限清楚, 切面湿润似胶冻样或半透明状, 质地柔韧. MLS由形态一致的圆形或卵圆形原始间叶细胞、数量不等的小印戒样脂肪母细胞、突出的分支状血管及黏液样基质组成. 以前称为圆形细胞脂肪肉瘤(round cell liposarcoma, RCL)也包括在这一类中. 90%以上的MLS中存在一种非随机的特异性染色体相互平衡易位, 导致FUS/DDIT3基因融合[9], 形成*t*(12;16)(q13;p11), 即12号染色体长臂的1区3带至末端与16号染色体短臂的1区1带至末端片段相互易位.

MLS的病理学诊断并不难: (1)肿瘤组织内出现大片均匀黏液样基质, 部分区域呈微囊性淋巴管瘤样或扩张的肺泡状, 囊腔内可见云雾样或粉染颗粒, 具有典型“肺水肿”样形态表现, 以瘤体中央区域为著, 可能系组织变性或细胞器发育不良, 分界膜系统包括胞膜破裂脂质融合所致; (2)大量分支状毛细血管, 壁较薄, 缺乏平滑肌支撑, 有时仅由一层内皮细胞构成, 张力低, 口径小, 形成网络; (3)较成熟的脂肪细胞中散在不同成熟阶段的脂肪母细胞, 多数为核端小空泡型及小印戒细胞型, 核浓染, 有压凹或形状不规则, 轻度异型, 核分裂象罕见.

因无特异性标记, 只能通过排除法并结合特殊染色如油红O和苏丹Ⅳ等协助诊断. S-100常用来确定脂肪母细胞, 但特异性较差. 本例S-100及vimentin阳性表达, 诊断明确.

发生于小肠的MLS需要与以下病变相鉴别: (1)脂肪瘤: 多位于小肠黏膜下, 可多发, 呈息肉状生长, 肿瘤被覆小肠黏膜, 一般包膜完整, 切面黄色, 质软, 有油腻感. 镜下见小而不规则的脂肪小叶由粗细不等的纤维分隔, 肿瘤性脂肪细胞分化良好, 如果不是占据空间及完整包膜, 几乎与正常脂肪细胞无异. 核位于细胞边缘, 无异型及核分裂像. 有时基质呈黏液样, 血管丰富, 但不形成明显的丛状血管网. 最新研究表明[10], MDM2检测有助于MLS与其他脂肪源性肿瘤相鉴别; (2)小肠转移性脂肪肉瘤[11]或肠外脂肪肉瘤累及小肠[12]: 详细了解病史及影像学有助于鉴别. 转移者可多发, 累计小肠者, 肿瘤组织往往浸润浆膜并与之紧密黏连, 从外及内, 而小肠黏膜层一般无异常; (3)黏膜下脂肪黏液样变(mucoid degeneration): 病变无明显包膜, 由成熟性脂肪组织伴黏液样变性为特征, 缺乏脂肪母细胞; (4)脂肪瘤样脂肪肉瘤黏液变性可找到多泡状的脂肪母细胞; (5)小肠脂肪增生症(intestinal lipomatosis): 肠壁间质尤其是浆膜脂肪组织弥漫性增生, 无明确包膜[13], 细胞分化成熟, 无脂肪母细胞; (6)血管脂肪瘤: 多发生于20岁左右男青年的前臂, 局部有疼痛和压痛, 可多发, 瘤体直径多在2 cm以内, 由成熟的脂肪细胞和簇状毛细血管构成, 血管腔内多发性微血栓为本瘤的特征之一; (7)血管黏液瘤, 该瘤好发于会阴及盆腔, 血管无分支, 血管壁常有厚的平滑肌, 无脂肪母细胞; (8)黏液样胃肠道间质瘤(gastrointestinal stromal tumours, GIST): 虽可见广泛的黏液样改变, 但肿瘤密集区主要由细长梭形细胞构成, 边界清楚, 胞质红染, 核常位于中心, 呈棒状, 缺少脂肪母细胞及丛状毛细血管网. 免疫组织化学CD34、CD117及Dog-1[14]呈阳性; (9)低度恶性纤维黏液样肉瘤: 肿瘤由纤维母细胞样细胞密集区及黏液样变性疏松区组成, 梭形细胞胞质淡染, 核细长, 异型性不明显, 常呈旋涡状排列. 肌源性标记物阳性而S-100阴性; (10)神经纤维瘤黏液变性. 腹膜后多见. 瘤细胞呈纤细的梭形, 胞质少, 核细长呈波浪状, 染色质深, 呈束状、平行状排列, 偶见栅栏状排列, 细胞疏密分布不均, 有灶性黏液样间质. 虽S-100呈阳性, 但同时Syn、CD56等神经内分泌标记物也阳性表达. 本例部位和形态学典型, 免疫组织化学结果显示瘤细胞表达S-100及vimentin, 不表达CD117、desmin、calponin及h-caldesmon, 结果支持MLS.

黏液样脂肪肉瘤一般预后良好, 少数病例可局部复发, 文献报道MLS的5年生存率75%, 复发率约12%[15], 仅个别出现转移[2,10,15]. 其发病部位、深度、大小及安全手术切缘情况等因素与肿瘤预后相关, 其中最重要的因素是肿瘤发生部位, 如发生于肢体和躯干浅表部位, 广泛切除一般可治愈, 而发生于深部组织(如腹膜后、腹腔和纵隔)则有复发的倾向. 在外检中如遇到反复复发的“脂肪瘤”要小心, 以避免被其假良性形态所迷惑, 如果伴有黏液变要想到MLS. 肿

瘤体积大、核分裂指数高被认为是预后不良的病理学独立指标. 手术为主辅以放化疗, 可提高疗效. 手术应至少切除肿瘤及其边缘2-3 cm以上的正常组织. 因MLS较少发生淋巴道转移, 一般不必行淋巴结清扫. 本例术后未行放化疗, 随访至今已历14 mo, 患者健在. 然而到目前为止, 由于文献报道较少, MLS的临床特点、生物学特性以及其与组织形态之间的关系等尚待进一步研究.

4 参考文献

1 Atik M, Whittlesey RH. Liposarcoma of jejunum. *Ann Surg* 1957; 146: 837-842 [PMID: 13479054 DOI: 10.1097/00000658-195711000-00018]
2 Mohandas D, Chandra RS, Srinivasan V, Bhaskar AG. Liposarcoma of the ileum with secondaries in the liver. *Am J Gastroenterol* 1972; 58: 172-176 [PMID: 5056514]
3 Wood DL, Morgenstern L. Liposarcoma of the ileocecal valve: a case report. *Mt Sinai J Med* 1989; 56: 62-64 [PMID: 2784186]
4 Bianchi E, De Monti M, Miani S, Stringhi E, Scorza R. [Malignant neoplasia of the small intestine. Apropos of 7 cases. Clinical discussion and review of the literature]. *Minerva Chir* 1998; 53: 289-298 [PMID: 9701984]
5 De Monti M, Mangoni I, Gobatti D, Ghilardi G, Scorza R. [Primary jejunal liposarcoma]. *Minerva Gastroenterol Dietol* 2000; 46: 119-122 [PMID: 16498358]
6 Atik M, Whittlesey RH. Liposarcoma of jejunum. *Ann Surg* 1957; 146: 837-842 [PMID:13479054 DOI: 10.1097/00000658-195711000-00018]
7 Christopher DM. Fletcher, Julis A. Bridge, Pancras C.W.Hogendoorn, Fredrik Mertens. WHO Classification of Tumours of Soft and Bone. WHO, 2013: 39-41
8 Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND (EDS). World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Digestive System. IARC Press: Lyon, 2010, 115-116
9 Antonescu CR, Elahi A, Humphrey M, Lui MY, Healey JH, Brennan MF, Woodruff JM, Jhanwar SC, Ladanyi M. Specificity of TLS-CHOP rearrangement for classic myxoid/round cell liposarcoma: absence in predominantly myxoid well-differentiated liposarcomas. *J Mol Diagn* 2000; 2: 132-138 [PMID: 11229517]
10 Thway K, Flora R, Shah C, Olmos D, Fisher C. Diagnostic utility of p16, CDK4, and MDM2 as an immunohistochemical panel in distinguishing well-differentiated and dedifferentiated liposarcomas from other adipocytic tumors. *Am J Surg Pathol* 2012; 36: 462-469 [PMID: 22301498 DOI: 10.1097/PAS.0b013e3182417330]
11 Shibata Y, Sato K, Kodama M, Nanjyo H. Metastatic liposarcoma in the jejunum causing intussusception: report of a case. *Surg Today* 2008; 38: 1129-1132 [PMID: 19039641 DOI: 10.1007/s00595-007-3748-5]
12 Wolfhagen FH, Mensing JW, Veen HF, Dees A. Late recurrence of liposarcoma simulating adenoma of the duodenum. *Neth J Med* 1999; 54: 231-234 [PMID: 10399451]
13 Suárez Moreno RM, Hernández Ramírez DA, Madrazo Navarro M, Salazar Lozano CR, Martínez Gen R. Multiple intestinal lipomatosis. Case report. *Cir Cir* 2010; 78: 163-165 [PMID: 20478119]
14 隋杏玲, 郝旺, 孙秀威. DOG1、CD117和PDGFRA在胃肠道间质瘤中的表达其相关性. 世界华人消化杂志 2011; 19: 912-918
15 Haniball J, Sumathi VP, Kindblom LG, Abudu A, Carter SR, Tillman RM, Jeys L, Spooner D, Peake D, Grimer RJ. Prognostic factors and metastatic patterns in primary myxoid/round-cell liposarcoma. *Sarcoma* 2011; 2011: 538085 [PMID: 22190864 DOI: 10.1155/2011/538085]

编辑 田滢 电编 闫晋利

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》栏目设置

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

世界华人消化杂志 2013年4月8日; 21(10): 936-939
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

丹参多酚酸盐对溃疡性结肠炎的疗效

林 海, 董 云, 费志勇, 陈兴田, 王瑞武, 陈庆法, 徐 燕

■背景资料
溃疡性结肠炎(UC)虽然表现为黏液脓血便, 但却往往合并血液高凝及血小板数目及活化增多. 丹参多酚酸盐为新一代活血化瘀药物, 不良反应少, 用于心脏及大脑缺血性疾病较多, 而目前探讨丹参多酚酸盐对UC的治疗作用的研究极少.

林海, 董云, 费志勇, 陈兴田, 王瑞武, 陈庆法, 徐燕, 山东省临沂市沂水中心医院消化内科 山东省临沂市 276400
林海, 主要从事消化系疾病的相关研究.
作者贡献分布: 此研究由林海、费志勇及陈兴田设计; 研究过程由林海、董云、王瑞武及徐燕完成; 数据分析由林海与陈庆法完成; 本论文写作由林海完成.
通讯作者: 林海, 276400, 山东省临沂市沂水县健康路17号, 临沂市沂水中心医院消化科. xiaolinhai139@163.com
电话: 0539-2251731-71739
收稿日期: 2012-11-10 修回日期: 2013-01-24
接受日期: 2013-03-15 在线出版日期: 2013-04-08

Therapeutic effect of salvianolate against ulcerative colitis

Hai Lin, Yun Dong, Zhi-Yong Fei, Xing-Tian Chen, Rui-Wu Wang, Qing-Fa Chen, Yan Xu

Hai Lin, Yun Dong, Zhi-Yong Fei, Xing-Tian Chen, Rui-Wu Wang, Qing-Fa Chen, Yan Xu, Department of Gastroenterology, Central Hospital of Yishui, Linyi 276400, Shandong Province, China
Correspondence to: Hai Lin, Department of Gastroenterology, Central Hospital of Yishui, 17 Jiankang Road, Yishui County, Linyi 276400, Shandong Province, China. xiaolinhai139@163.com
Received: 2012-11-10 Revised: 2013-01-24
Accepted: 2013-03-15 Published online: 2013-04-08

Abstract

AIM: To investigate the correlation between changes in platelets and coagulation and disease severity in patients with ulcerative colitis (UC) and to investigate the therapeutic effect of salvianolate against UC.

METHODS: One hundred and ten patients with UC and 84 healthy controls were included in the study. Platelet count (PLT), mean platelet volume (MPV), erythrocyte sedimentation rate (ESR), and C-reactive protein (CRP) were compared between UC patients and healthy controls. UC patients were randomly divided into a control group and a treatment group. The control group received only routine treatment, while the treatment group received both salvianolate and routine treatment. PLT, MPV, ESR, and CRP were compared between the two groups. Stool characters and colonoscopy performance were also observed to evaluate the treatment effect.

RESULTS: PLT in UC patients was superior to that in normal controls (292.0 ± 104.8 *vs* 217.2 ± 45.6), while MPV in UC patients was inferior to that in normal controls (9.1 ± 0.8 *vs* 10.5 ± 1.1, $P < 0.05$). PLT was higher in patients with severe disease than in those with mild disease (292.0 ± 104.8 *vs* 244.2 ± 74.8, $P < 0.05$). There was no significant difference in PLT between patients with mild and those with moderate disease (244.2 ± 74.8 *vs* 255.0 ± 52.3, $P > 0.05$), or between those with moderate and severe disease (255.0 ± 52.3 *vs* 292.0 ± 104.8, $P > 0.05$). There were significant differences in MPV (9.5 ± 0.6 *vs* 9.2 ± 0.6 *vs* 8.5 ± 1.0), ESR (6.1 ± 4.5 *vs* 17.1 ± 9.0 *vs* 30.0 ± 19.7), CRP (9.3 ± 4.3 *vs* 14.7 ± 9.8 *vs* 31.2 ± 21.0) between patients with mild, moderate and severe disease (all $P < 0.05$). PLT (218.0 ± 34.8 *vs* 245.0 ± 45.3), ESR (7.3 ± 5.1 *vs* 14.7 ± 4.7) and CRP (8.3 ± 3.7 *vs* 11.6 ± 6.4) were lower, but the effective rate (93.8% *vs* 75.0%) and MPV(10.1 ±1.0 *vs* 9.7±0.8) were higher in the treatment group than in the control group after therapy (all $P < 0.05$).

CONCLUSION: PLT and MPV can be used as markers for assessing the severity of UC. Treatment with salvianolate can improve the treatment effect of UC by reducing PLT number and activation and activating blood circulation.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Ulcerative colitis; Platelet count; Mean platelet volume, Salvianolate

Lin H, Dong Y, Fei ZY, Chen XT, Wang RW, Chen QF, Xu Y. Therapeutic effect of salvianolate against ulcerative colitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(10): 936-939
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/936.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i10.936

摘要

目的: 探讨溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)患者血小板改变情况, 并观察丹参多酚酸盐对UC的治疗作用及对患者血小板计数(platelet count, PLT), 血小板平均体积(mean platelet volume, MPV), 及血沉(erythrocyte sedimentation rate, ESR), 血清C反应蛋白

■同行评议者
丁士刚, 教授, 北京大学第三医院消化科

(C-reactive protein, CRP)的影响.

方法: 检测110例UC患者及84例健康者PLT、MPV、ESR、CRP, 并将80例UC患者随机分为对照组(常规治疗32例)和治疗组(常规治疗加丹参多酚酸盐50 mg静脉滴注48例), 比较两组治疗前后病情改善情况.

结果: UC患者PLT较健康对照者升高(292.0±104.8 *vs* 217.2±45.6, *P*<0.05), 而MPV较对照组降低(9.1±0.8 *vs* 10.5±1.1, *P*<0.05). 重度组UC患者较轻度组UC患者PLT升高(292.0±104.8 *vs* 244.2±74.8, *P*<0.05), 轻、中度组(244.2±74.8 *vs* 255.0±52.3, *P*>0.05)及中、重度组(255.0±52.3 *vs* 292.0±104.8, *P*>0.05) UC患者PLT无明显差异; 轻、中、重度组间MPV(9.5±0.6 *vs* 9.2±0.6 *vs* 8.5±1.0), ESR(6.1±4.5 *vs* 17.1±9.0 *vs* 30.0±19.7), CRP(9.3±4.3 *vs* 14.7±9.8 *vs* 31.2±21.0)差异均有统计学意义(*P*<0.05). 治疗组的总有效率及完全缓解率均优于对照组(93.8% *vs* 75.0%, *P*<0.05). 两组治疗后治疗组PLT(218.0±34.8 *vs* 245.0±45.3), ESR(7.3±5.1 *vs* 14.7±4.7), CRP(8.3±3.7 *vs* 11.6±6.4)低于对照组, MPV高于对照组(10.1±1.0 *vs* 9.7±0.8, *P*<0.05).

结论: PLT、MPV可作为UC病情的评估指标, 丹参多酚酸盐通过降低PLT, 活化程度及活血化瘀而改进UC的治疗效果, 有必要对丹参多酚在UC治疗中的作用作进一步研究.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 溃疡性结肠炎; 血小板计数; 平均血小板体积; 丹参多酚酸盐

核心提示: 丹参多酚酸盐提取工艺先进, 其中丹酚酸B含量超过80%. 本研究从丹参多酚酸盐活血化瘀, 降低血黏度, 抑制血小板聚集, 改善肠黏膜微循环方面探讨其对于溃疡性结肠炎的治疗作用.

林海, 董云, 费志勇, 陈兴田, 王瑞武, 陈庆法, 徐燕. 丹参多酚酸盐对溃疡性结肠炎的疗效. 世界华人消化杂志 2013; 21(10): 936-939 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/936.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i10.936

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)为结直肠非特异性炎性病变, 病因尚不完全清楚. 目前研究发现多数UC患者存在血小板和凝血机制改变[1]. 血小板活化增多及血液高凝导致的微循环障碍及微血栓形成是UC发病的机制之一[2]. 血小板平均体积(mean platelet volume, MPV)变小可代表血小板活化, 但关于血小板计数(platelet count, PLT)及血小板活化改变与UC活动关系尚不完全明确. 丹参多酚酸盐具有降低血液黏度、改善微循环作用, 常用于冠心病、脑血管硬化等缺血性疾病的治疗, 但有关该药用于UC治疗的报道不多. 我们将丹参多酚酸盐用于UC患者的辅助治疗, 旨在探讨其在UC的治疗价值.

■研发前沿
UC为肠黏膜缺血性炎症, 应用活血化瘀及抗凝药物降低血黏度, 抑制血小板聚集, 从而改善肠黏膜循环, 促进肠黏膜修复成为近年来研究热点之一.

1 材料和方法

1.1 材料 110例活动期UC患者均来自我院消化内科住院患者, 并经肠镜及病理检查诊断明确, UC活动度评估采用临床活动度指数(clinical activity index, CAI), CAI评分≤4分为缓解期, >5分为活动期[3]. 年龄17-76岁(平均48.5岁±13.9岁, 诊断标准参考2007年中华医学会炎症性肠病诊断标准[4]. 即内镜下表现为肠黏膜充血水肿, 多发糜烂, 溃疡, 血管纹理不清. 活检病理符合UC表现. 排除服用对化验检查有影响的药物(包括阿司匹林、华法林、避孕药及中药等), 并除外导致血小板及凝血异常的疾病. 疾病程度按Truelove分级标准分为轻、中、重度3组[5]. 轻度37例(平均43.3岁±12.9岁). 中度48例(平均50.7岁±12.9岁), 重度25例(平均51.9岁±15.4岁).

1.2 方法

1.2.1 检测指标: 收集110例经肠镜及病理确诊的UC活动期患者及健康对照者84例, 常规方法化验UC患者及健康对照者PLT、MPV、血沉(erythrocyte sedimentation rate, ESR), 血清C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)水平.

1.2.2 治疗干预: 将80例UC患者随机分为对照组32例及治疗组48例, 两组在年龄、性别、病情及病变范围方面无统计学差异(*P*>0.05). 对照组: 口服柳氮磺胺吡啶片(250 mg/片)1 g tid, 病变局限于直肠或乙状结肠者同时行地塞米松5 mg及锡类散1 g保留灌肠. 治疗组: 对照组治疗方法基础上加用丹参多酚酸盐50 mg静脉滴注(qd), 3 wk为一疗程. 治疗前后复查血常规, 血小板, 肝肾功, 电解质, 凝血常规, ESR, CRP, 并随时观察患者临床症状及大便改善情况. 1疗程后复查肠镜.

1.2.3 疗效判定: 完全缓解: 临床症状消失, 大便正常, 复查肠镜结肠黏膜正常, 溃疡愈合, 糜烂消失; 治疗有效: 临床症状消失, 大便基本正常, 复查肠镜结肠黏膜炎症轻微或假息肉形成; 无

■相关报道
Patel等应用氯吡格雷抗凝, 抗血小板聚集有助于减轻UC肠道炎症活动,并促进受损肠黏膜修复.

■应用要点
丹参多酚酸盐通过抑制血小板聚集, 抗氧化, 改善肠黏膜微循环作用而改善UC治疗的效果, 且不良反应少, 有必要对其做进一步研究.

表 1 活动期溃疡性结肠炎各组患者血小板计数、血小板平均体积、血沉和血清C反应蛋白的比较

分组	*n*	血小板计数	血小板平均体积(fl)	血沉(mm/h)	血清C反应蛋白(mg/L)
轻度	37	244.2±74.8	9.5±0.6	6.1±4.5	9.3±4.3
中度	48	255.0±52.3	9.2±0.6	17.1±9.0[a]	14.7±9.8[a]
重度	25	292.0±104.8[c]	8.5±1.0[ac]	30.0±19.7[ac]	31.2±21.0[ac]

[a]*P*<0.05 *vs* 轻度组; [c]*P*<0.05 *vs* 中度组.

表 2 两组治疗后血小板计数、血小板平均体积、血沉和清C反应蛋白的比较

分组	*n*	血小板计数	血小板平均体积(fl)	血沉(mm/h)	清C反应蛋白(mg/L)
治疗组	48	218.0±34.8[a]	10.1±1.0[a]	7.3±5.1[a]	8.3±3.7[a]
对照组	32	245.0±45.3	9.7±0.8	14.7±4.7	11.6±6.4

[a]*P*<0.05 *vs* 对照组.

效: 临床症状, 大便及肠镜检查无改善.

统计学处理 应用SPSS16.0统计软件进行分析, 计量资料以mean±SD表示, 比较采用*t*检验. 计数资料比较采用χ^2检验. *P*<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 UC患者与健康者PLT、MPV、ESR、CRP比较 UC患者PLT较健康对照者升高(292.0±104.8 *vs* 217.2±45.6), MPV较对照组降低(9.1±0.8 *vs* 10.5±1.1), 差异均具有统计学意义(*P*<0.05). UC患者ESR为16.4 mm/h±14.3 mm/h, 而CRP为16.6 mm/h±14.6 mg/L.

2.2 不同病情UC患者MPV、PLT、ESR、CRP比较 重度组UC患者较轻度组UC患者PLT升高, 轻、中度组及中、重度组UC患者PLT均无明显差异(*P*>0.05); 各组间MPV、CRP、ESR差异均有统计学意义(*P*<0.05, 表1).

2.3 临床疗效比较 48例治疗组患者中完全缓解者28例, 有效者17例, 总有效率93.8%, 而32例对照组患者中完全缓解者10例, 有效者14例, 总有效率75.0%, 两组比较差异有统计学意义(*P*<0.05).

2.4 两组治疗后PLT、MPV、ESR和CRP比较 治疗组PLT、ESR、CRP高于对照组, MPV低于对照组(*P*<0.05, 表2).

3 讨论

黏液脓血便为UC患者活动期主要临床表现, 但研究发现多数UC患者却反而合并血液高凝及微循环高血栓形成状态. Graef通过对100例UC患者的尸解发现UC患者高凝及合并血栓的发生率多达39%. 既往有研究认为这种血液高凝状态与UC患者存在血小板活化, 纤维蛋白原及氧自由基形成增多相关, 但尚缺乏系统的研究. 我们研究发现活动期UC患者合并有PLT及活化增加, 与既往研究认为PLT及MPV可以作为评估UC活动度及严重程度的指标相一致[6,7]. 血小板数目及活化增加不仅可以引起血小板聚集, 阻塞肠道微循环, 还可引起肠黏膜缺血, 缺氧, 坏死导致血栓形成, 而且通过释放多种炎症因子, 如: 血小板因子4(platelet factor 4), 血小板活化因子(platelet-activating factor)等促进白细胞在炎症内皮细胞上沉积, 产生氧自由基等引起肠黏膜炎症损伤而诱发UC. 有关UC患者血小板异常的原因尚未完全明确, 我们考虑与下列因素可能相关: (1)UC患者黏液脓血便较多, 导致血容量减少, 血小板相对较高; (2)部分严重血便患者由于应用止血药, 而导致血液高凝及血小板异常; (3)各种肠道毒素及炎性细胞刺激血小板生成增多; (4)应用糖皮质激素患者也可因糖皮质激素刺激骨髓血小板生成及活化增加. 而对于MPV减小的机制, 目前认为与UC产血小板巨核细胞容积变小, 血小板颗粒内容物增加及血小板活化增多相关[7].

由于UC患者多合并明显血液高凝状态和微循环障碍, 且其脓血便因肠黏膜炎症及微血栓形成所致, 而非凝血机能下降所致, 因此改善UC患者血液高凝, 减少肠黏膜微血栓, 抑制血小板活化, 对于UC治疗具有较高价值.

既往已有应用丹参注射液活血化瘀, 降低血

小板活化以治疗UC的报道[8]. 但丹参类制剂由于存在有效成分不明确, 质量控制指标及安全难以规范等问题而导致不良反应增加[9]. 丹参多酚酸盐为丹参芬的混合药, 易溶于水, 由于提纯工艺先进且采用原瓶冻干技术, 其丹参最有效成分-丹酚酸B含量超过80%, 且不良反应明显减少. 本研究中所有应用丹参多酚酸盐的患者均无不良反应发生. 丹参多酚酸盐不仅具有活血化瘀, 降低血黏度, 抑制血小板聚集, 而且对胶原诱导的血小板释放5-羟色胺也有显著抑制作用, 从而改善肠黏膜微循环[10]. 此外丹参多酚具有调节机体免疫力, 以及通过增加肠黏膜超氧化物歧化酶活性, 从而清除肠黏膜细胞中的氧自由基, 抑制脂质过氧化, 稳定肠黏膜细胞通透性, 减少黏膜出血, 增强肠黏膜抗感染能力[11]. 我们研究发现丹参多酚酸盐治疗组较对照组治疗效果改善明显, 推测与丹参多酚酸盐通过抑制血小板聚集, 降低活化, 从而改善微血栓及血液高凝状态, 促进肠黏膜修复有关.

由于UC合并血小板及凝血异常, 目前不仅有应用中药活血化瘀改善肠黏膜循环的研究, 而且国内外亦有应用肝素、阿司匹林及氯吡格雷抗凝、抑制血小板聚集及活化而减少激素用量并促进UC受损肠黏膜修复的报道[12,13]. 因为抗凝, 抗血小板治疗一方面可以通过减轻组织淤血状态而使肠黏膜渗出减少, 促进溃疡, 糜烂愈合; 另一方面具有改善组织血供, 提供病变修复所需营养元素, 调节机体免疫力而辅助治疗UC, 但由于阿司匹林类药物对胃肠道黏膜具有损伤作用, 有关此类药物在UC中的应用仍有争议[14].

总之, 丹参多酚酸盐可以通过降低血液黏度及血细胞聚集性, 通畅血流, 改善病变肠黏膜血供, 减少炎症渗出, 调节机体免疫功能而促进溃疡修复. 但有关此类抗凝, 抗血小板, 活血化瘀类药物的应用, 目前尚缺乏统一认识, 需进一步探索研究[15].

4 参考文献

1 施斌斌, 黄重发, 朱清. 溃疡性结肠炎的临床及内镜特点分析120例. 世界华人消化杂志 2008; 16: 1951-1953
2 Danese S, Fiocchi C. Etiopathogenesis of inflammatory bowel diseases. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 4807-4812 [PMID: 16937461]
3 Rachmilewitz D. Coated mesalazine (5-aminosalicylic acid) versus sulphasalazine in the treatment of active ulcerative colitis: a randomised trial. *BMJ* 1989; 298: 82-86 [PMID: 2563951 DOI: 10.1136/bmj.298.6666.82]
4 中华医学会消化病学分会炎症性肠病协作. 对我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见. 胃肠病学 2007; 22: 488-495
5 Truelove SC, Witts LJ. Cortisone in ulcerative colitis; final report on a therapeutic trial. *Br Med J* 1955; 2: 1041-1048 [PMID: 13260656 DOI: 10.1136/bmj.2.4947.1041]
6 Järemo P, Sandberg-Gertzen H. Platelet density and size in inflammatory bowel disease. *Thromb Haemost* 1996; 75: 560-561 [PMID: 8743178]
7 Kapsoritakis AN, Koukourakis MI, Sfiridaki A, Potamianos SP, Kosmadaki MG, Koutroubakis IE, Kouroumalis EA. Mean platelet volume: a useful marker of inflammatory bowel disease activity. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 776-781 [PMID: 11280550 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2001.03621.x]
8 孙建顺, 樊慧丽, 张长庚. 丹参合用柳氮磺胺吡啶对溃疡性结肠炎患者血液流变学的影响及疗效观察. 临床消化病杂志 2006; 18: 106-107
9 麦荣国, 覃彪民. 丹参注射液不良反应因素探析. 中国医药指南 2011; 9: 11-12
10 张连峰, 刘继周. 丹参对溃疡性结肠炎病人血小板功能的影响. 中华消化杂志 2002; 22: 383-384
11 范雪亮. 丹参多酚酸盐药理及临床应用. 中国医药 2012; 7: 1343-1344
12 徐德亮, 穆平, 沙士义, 王雪萍, 金廷, 刘云涛. 溃疡性结肠炎血液流变学及抗凝治疗的临床研究. 胃肠病学和肝病学杂志 2005; 14: 413-415
13 Patel SH, Rachchh MA, Jadav PD. Evaluation of anti-inflammatory effect of anti-platelet agent-clopidogrel in experimentally induced inflammatory bowel disease. *Indian J Pharmacol* 2012; 44: 744-748 [PMID: 23248405 DOI: 10.4103/0253-7613.103278]
14 Yi F, Xia B. Aspirin use and development of inflammatory bowel disease: confounding or causation? *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 34: 1350-1351; author reply 1351 [PMID: 22085378 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04872.x]
15 Stadnicki A. Involvement of coagulation and hemostasis in inflammatory bowel diseases. *Curr Vasc Pharmacol* 2012; 10: 659-669 [PMID: 22272910]

编辑 田滢 电编 闫晋利

■同行评价

本文以UC合并血小板和凝血机制改变为靶点研究丹参多酚酸盐在UC治疗中的作用有一定意义.

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2013年4月8日; 21(10): 940-944
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

免疫微生态营养替代传统肠道准备在微创治疗结直肠癌中的应用

丁宏达, 苏 琪, 殷红专

■背景资料
目前国内主要采用3 d法进行肠道准备, 然而传统方式虽然减少了肠道内的细菌数量, 但同时也丢失了大量水分, 造成肠道内菌群失调, 损伤肠道黏膜屏障. 如何寻找既能保证肠道准备的效果, 又能减少水分的大量流失及术后肠道菌群失调, 又能保护肠道屏障功能的肠道准备方法, 具有非常重要的意义.

丁宏达, 苏琪, 殷红专, 中国医科大学附属盛京医院第八普通外科 辽宁省沈阳市 110004
丁宏达, 硕士, 主要从事结直肠肿瘤的治疗及肠道准备方面的研究.
作者贡献分布: 丁宏达与苏琪对此文所作贡献均等; 此课题由丁宏达与苏琪设计; 研究过程由丁宏达与殷红专操作完成; 研究所用新试剂与分析工具由苏琪提供; 数据分析由丁宏达完成; 本论文写作由丁宏达完成.
通讯作者: 苏琪, 教授, 主任医师, 110004, 辽宁省沈阳市和平区三好街36号, 中国医科大学附属盛京医院. suqi100@hotmail.com
收稿日期: 2013-01-23 修回日期: 2013-03-05
接受日期: 2013-03-21 在线出版日期: 2013-04-08

Use of immune micro-ecological nutrition as an alternative to traditional bowel preparation in minimally invasive treatment of colorectal cancer

Hong-Da Ding, Qi Su, Hong-Zhuan Yin

Hong-Da Ding, Qi Su, Hong-Zhuan Yin, Department of General Surgery, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China
Correspondence to: Qi Su, Professor, Chief Physician, Department of General Surgery, Shengjing Hospital of China Medical University, 36 Sanhao Street, Heping District, Shenyang 110004, Liaoning Province, China. suqi100@hotmail.com
Received: 2013-01-23 Revised: 2013-03-05
Accepted: 2013-03-21 Published online: 2013-04-08

Abstract

AIM: To observe the effect of immune micro-ecological nutrition as a bowel preparation method on postoperative inflammatory reaction and immune condition in patients with colorectal cancer after laparoscopic radical resection.

METHODS: Sixty patients with colorectal cancer were randomly divided into either a trial group or a control group. Three-day conventional bowel preparation was administered in the control group, while immune micro-ecological nutrition was administered in the trial group. Quality of the preparation was estimated during operation. Intestinal flora in the stool, lymphocyte count, immune globulins, and serum C-reactive protein were measured before and 5 d after the operation. Meanwhile, the time required for intestinal function recovery and incidence of postoperative complications were recorded.

RESULTS: Good and excellent bowel preparation was achieved in 90% of patients in the trial group and in 93% of patients in the control group. There was no significant difference between the trial and control groups in the bowel clear effect. Preoperative intestinal flora, lymphocyte count, serum immunoglobulin and complement in blood showed no significant differences between the two groups. Postoperative lymphocyte count (1.40 ± 0.44 *vs* 1.15 ± 0.40, $P < 0.05$), immune globulins IgG (9.32 ± 2.11 *vs* 8.10 ± 2.34, $P < 0.05$), IgA (1.95 ± 0.31 *vs* 1.78 ± 0.27, $P < 0.05$), IgM (1.45 ± 0.45 *vs* 1.22 ± 0.51, $P < 0.05$), serum C3 (1.62 ± 0.27 *vs* 1.45 ± 0.24, $P < 0.05$) and C4 (0.87 ± 0.11 *vs* 0.71 ± 0.12, $P < 0.05$) were significantly higher in the trial group than in the control group, while postoperative serum C-reactive protein was significantly lower in the trail group than in the control group (16.0 ± 2.3 *vs* 18.2 ± 2.9, $P < 0.05$). The time required for intestinal function recovery was significantly shorter in the trial group than in the control group. The incidence of anastomotic fistula showed no statistical difference between the two groups.

CONCLUSION: Immune micro-ecological nutrition as a bowel preparation method is effective and feasible in reconstructing postoperative intestinal flora, recovering postoperative intestinal function, diminishing early postoperative inflammatory reaction and building up patients' immune function.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Colorectal tumor; Laparoscopic; Bowel preparation; Immune micro-ecological nutrition

Ding HD, Su Q, Yin HZ. Use of immune micro-ecological nutrition as an alternative to traditional bowel

■同行评议者
任晓峰, 教授, 东北农业大学动物医学学院微生物室; 李君文, 研究员, 军事医学科学院卫生学环境医学研究所

preparation in minimally invasive treatment of colorectal cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(10): 940-944 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/940.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i10.940

摘要

目的: 观察免疫微生态营养作为肠道准备方法的有效性及患者术后炎症反应及免疫状态.

方法: 将60例行择期腹腔镜结直肠癌根治性手术的患者随机分为试验组30例和对照组30例. 对照组采用传统的3 d肠道准备方法, 试验组在术前3 d给予患者免疫微生态营养. 术前1 d晚间给予患者恒康正清(聚乙二醇电解质)按说明书配置3 000 mL液体导泻. 术后接受等氮量等热卡营养支持. 术前3 d及术后第1次排便检测粪便中肠道菌群, 术中观察肠道清洁度, 检测术前及术后第5天淋巴细胞计数, 免疫球蛋白IgG、IgA、IgM, 血清补体C3、C4及血清C反应蛋白浓度; 观察术后白细胞计数恢复正常时间、排气时间及吻合口瘘等发生情况.

结果: 经过统计学计算, 试验组和对照组清肠效果的优、良率分别为90%和93.3%, 无显著性差异. 术前肠道菌群比例, 淋巴细胞计数, 血清免疫球蛋白, 血清补体及血清C反应蛋白浓度等指标均无显著性差异.术后第5天淋巴细胞计数试验组(1.40±0.44)高于对照组(1.15±0.40). 免疫球蛋白试验组IgG(9.32±2.11)、IgA(1.95±0.31)、IgM(1.45±0.45)明显高于对照组IgG(8.10±2.34)、IgA(1.78±0.27)、IgM(1.22±0.51), 血清补体试验组C3(1.62±0.27)和C4(0.87±0.11)明显高于对照组C3(1.45±0.24)和C4(0.71±0.12), 以上数据差异均有统计学意义(P<0.05). 血清C反应蛋白浓度术后试验组(16.0±2.3)明显低于对照组(18.2±2.9), 差异有统计学意义(P<0.05). 术后患者白细胞计数恢复正常时间及排气时间较对照组明显提前, 感染发生例数试验组少于对照组(P<0.05). 吻合口瘘情况试验组与对照组无统计学差异.

结论: 免疫微生态营养作为肠道准备方法有效可行. 益于术后重建肠道菌群, 且有利于结直肠癌术后肠道功能的保护及恢复, 减少术后早期炎性反应, 改善患者免疫功能.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 结直肠肿瘤; 腹腔镜; 肠道准备; 免疫微生态营养

核心提示: 免疫微生态营养(益生菌、谷氨酰胺、肠内营养)代替传统肠道准备方法有效可行. 证明其在有效性及安全性的前提下, 益于术后重建肠道菌群, 且有利于结直肠癌术后肠道功能的保护及恢复, 减少术后早期炎性反应, 改善患者免疫功能.

丁宏达, 苏琪, 殷红专. 免疫微生态营养替代传统肠道准备在微创治疗结直肠癌中的应用. 世界华人消化杂志 2013; 21(10): 940-944 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/940.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i10.940

■研发前沿
近期国内学者对传统肠道准备方法提出质疑. 目前很多研究证实免疫微生态营养可以调节肠道内微生态环境, 有助于术后肠道菌群重建, 维持肠黏膜的结构和功能, 提高肠道免疫功能. 因此使用免疫微生态营养代替传统肠道准备成为目前研究的热点之一.

0 引言

目前国内主要采用3 d法进行肠道准备, 主要包括药物肠道准备和机械肠道准备. 前者主要包括术前3 d口服抗生素, 减少肠道内的菌群. 后者包括口服泻药导泻及不同形式的机械性灌肠. 然而传统方式虽然减少了肠道内的细菌数量, 但同时也丢失了大量水分, 造成肠道内菌群失调, 损伤肠道黏膜. 免疫微生态营养包括益生菌, 谷氨酰胺及肠内营养. 益生菌可以调节肠道内微生态环境, 有助于术后肠道菌群重建. 谷氨酰胺可以维持肠黏膜结构和功能, 提高肠道免疫功能. 肠内营养可以提供机体所需的能量及营养物质, 纠正患者负氮平衡. 本研究的目的旨在寻找更加合理的肠道准备方式, 既能达到手术的要求, 又能利于术后重建肠道菌群, 减少术后的早期炎性反应, 改善患者的免疫功能.

1 材料和方法

1.1 材料

纳入标准: (1)2011-03/2011-07中国医科大学附属盛京医院住院并根据WTO诊断标准诊断结直肠癌患者; (2)行限期腹腔镜结直肠癌根治术. 排除标准: (1)有炎性肠病史; (2)严重心、肝、肾功能不全; (3)合并急性肠梗阻、穿孔、出血; (4)术中发现肿瘤腹腔广泛转移、严重浸润、无法切除者. 按上述标准, 60例病例纳入本研究. 其中男37例, 女23例. 年龄44-78岁, 中位年龄63岁. 所有患者均未接受围手术期放化疗治疗. 两组病例随机分为试验组30例, 对照组30例. 两组患者性别, 年龄, 术前营养状态等无显著性差异(P>0.05), 因此具有可比性.

1.2 方法

1.2.1 肠道准备: 对照组按传统术前肠道准备方法. 术前第3天无渣半流质饮食, 术前第1和第2天全流质饮食. 术前3 d内每天番泻叶9 g泡饮, 术前4 h口服20%甘露醇250 mL加0.9%生理盐水1 000 mL, 术前晚、术日清晨行清洁灌肠. 试验

■创新盘点
本文通过免疫微生态营养代替传统肠道准备方法，检测术后患者免疫状态，炎症反应指标及观察患者术后恢复情况，从临床角度寻找到更加合理的肠道准备方式，既能达到手术的要求，又能利于术后重建肠道菌群，减少术后早期炎性反应，改善患者的免疫功能.

表 1 两组患者免疫状态指标的变化 (mean ± SD, g/L)

分组	C3	C4	IgA	IgG	IgM
试验组					
术前	1.95 ± 0.32	0.95 ± 0.27	2.20 ± 1.01	10.52 ± 1.97	1.52 ± 0.34
术后5 d	1.62 ± 0.27	0.87 ± 0.11	1.95 ± 0.31	9.32 ± 2.11	1.45 ± 0.45
对照组					
术前	2.05 ± 0.45	0.90 ± 0.17	2.11 ± 1.08	10.32 ± 2.03	1.47 ± 0.35
术后5 d	1.45 ± 0.24	0.71 ± 0.12	1.78 ± 0.27	8.10 ± 2.34	1.22 ± 0.51

组采用免疫微生态营养, 包括术前3 d给予患者益生菌制剂(长型双歧杆菌, 保加利亚乳杆菌, 嗜热链球菌)4片, 3次/d, 谷氨酰胺制剂10 g, 3次/d, 口服肠内营养制剂. 于术前1 d下午5 h起禁饮食. 开始服用恒康正清(复方聚乙二醇电解质, 江西恒康药业有限公司), 按说明书配置3 000 mL溶液. 首次服用600-1 000 mL, 之后每隔10-15 min服用1次, 250 mL/次, 直到排出水样清便. 两组具有同年资医师完成腹腔镜结直肠癌根治手术. 术后给予等氮量及等热量营养支持.

1.2.2 肠道清洁度: 术中由手术组成员观察肠道清洁度. 根据术中肠腔内清洁程度分为优(肠腔内清洁, 基本无粪水, 肠管塌陷)、良(肠腔内有少量粪水, 基本无胀气)、中(肠腔内有少量稀便或较多粪水)、差(肠腔内有大量粪便)4级.

1.2.3 实验室指标: 术前及术后第5天淋巴细胞计数, 免疫球蛋白IgG、IgA、IgM, 血清补体C3、C4, C反应蛋白.

1.2.4 临床一般症状及并发症的观察: 观察项目主要包括: (1)患者术后白细胞计数恢复正常时间及第一次排气时间; (2)患者感染及吻合口瘘的发生情况; (3)各组术后第1次排便后粪检, 观察菌群比例, 判断菌群失调情况.

统计学处理 采用SPSS20.0统计软件, 进行统计分析, 所有计量数据以mean±SD表示, 经方差齐性检验为方差齐性则选用因素方差分析(ANOVA)求F值, 多样本t检验. 对于构成比采用χ^2检验. P<0.05为差异有显著意义.

2 结果

2.1 术中肠道清洁度观察 试验组清肠效果优者21例, 良者6例. 对照组优者23例, 良者5例. 二者清肠效果优良率分别为90.0%和93.3%. 两组直接差别无统计学意义(P>0.05).

2.2 两组患者营养前后实验室指标的变化 术前两组患者血清补体水平及免疫球蛋白水平无显著性差异, 术后第5天检测血清补体C3、C4及免疫球蛋白水平试验组均较对照组有明显升高, 差异具有统计学意义(P<0.05, 表1).

术前两组菌群比例(杆菌/球菌)无明显差异, 术后均有所降低, 术后第5天试验组较对照组有明显升高, 差异有统计学意义(P<0.05)两组患者术前淋巴细胞计数及C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)均无明显差异, 术后第5天检测两组淋巴细胞计数均较术前有所下降, 但试验组比对照组有明显升高. CRP值两组较术前均有升高, 术后第5天检测试验组较对照组明显下降, 差异具有统计学意义(P<0.05, 表2).

2.3 两组患者临床观察指标的变化 两组患者术后恢复及并发症情况. 试验组患者术后白细胞计数恢复正常时间及排气时间均较对照组提前, 差异具有统计学意义(P<0.05). 术后感染病例数试验组较对照组降低. 术后吻合口瘘发生情况试验组与对照组无显著性差异(表3).

3 讨论

结直肠手术术前要行肠道准备, 国内大多数医院依然采用以术前口服抗生素及番泻叶加甘露醇为主的3 d法肠道准备, 然而过度的口服抗生素及导泻会杀死肠道内大部分正常菌群, 导致肠道菌群失调, 破坏肠道黏膜屏障, 损伤肠道免疫功能[1]. 国外于20世纪90年代已开始使用1 d法肠道准备[2]. 主要泻药为磷酸钠和聚乙烯甘醇, 不进行机械性灌肠, 由于减少了饮食控制时间及过度的灌肠, 有助于减轻肠道黏膜屏障的损伤[3]. 国内有学者[4]研究证实术前不给予患者口服抗生素进行肠道准备可以避免肠道菌群失调、损害肠屏障功能而导致细菌易位, 从而降低术后感染性并发症发生率. 本试验在国外1 d法肠道准备基础上进行改良, 通过术前3 d给予患者免疫微生态营养代替传统肠道准备中口服抗生素, 术前1 d给予患者口服恒康正清, 主要成分为聚乙二醇电解质, 不进行机械性灌肠, 术中观察肠道清洁情况及术后吻合口瘘情况.

表 2 两组患者肠道菌群及炎症反应指标的变化 (mean ± SD)

分组	杆菌/球菌比例(%)	淋巴细胞计数($\times 10^9$/L)	C反应蛋白(mg/L)
试验组			
术前	8.05 ± 0.45	1.52 ± 0.35	7.90 ± 2.10
术后第5天	7.95 ± 0.32	1.40 ± 0.44	16.0 ± 2.30
对照组			
术前	7.80 ± 0.42	1.50 ± 0.45	8.50 ± 3.10
术后第5天	5.20 ± 0.35	1.15 ± 0.40	18.2 ± 2.90

表 3 两组患者临床观察指标的变化

分组	白细胞计数恢复正常时间(d)	排气时间(d)	感染数*n*(%)	吻合口瘘 *n*(%)
试验组	5.10 ± 1.34	2.70 ± 0.54	1(3.3)	1
对照组	6.30 ± 1.11	3.50 ± 0.60	3(10)	1

■应用要点

本文通过使用免疫微生态营养代替传统的肠道准备方法, 避免了传统肠道准备的机械灌肠和腹泻对肠道黏膜上皮直接的刺激和破坏, 维护了肠道微生态环境, 从而一定程度上保护了肠黏膜屏障, 对减轻术后早期全身炎性反应及加快肠道免疫功能的恢复起到了积极的作用, 对于指导术前肠道准备方式及围手术期营养支持具有重要的意义.

肠道菌群移位最主要特点为包括双歧杆菌和乳杆菌在内的厌氧菌数量的减少, 结直肠杆菌的大量繁殖, 容易造成炎症反应和代谢紊乱[5]. 要阻断或降低全身炎症反应及高分解代谢, 首先必须预防并及时纠正菌群紊乱. 益生菌能通过与肠上皮细胞的特异性受体结合, 有序地定植在肠上皮细胞表面, 构成有层次的厌氧菌膜, 并与其他厌氧菌一起构成膜菌群, 一方面起占位性保护作用, 保护肠黏膜免受其他病原菌的黏附和入侵; 另一方面, 通过产生有机酸、过氧化氢等其他物质, 抑制病原菌的黏附、生长和繁殖, 从而发挥屏障效应. 另外, 益生菌还能以争夺营养和分泌有毒代谢产物的方式, 抑制其他有害的细菌在肠道中过度繁殖, 并通过竞争性占位抑制其他有害菌结合到黏膜表面[6]. Rayes等[7]研究显示, 免疫微生态营养可明显改善内毒素休克状态下的肠黏膜功能损伤, 有效地降低门静脉血内毒素的水平、肠道细菌易位率和肝移植术后的感染率. Nomura等[8]研究发现. 试验组在给予益生菌制剂后. 术后感染并发症明显低于对照组(23% *vs* 53%, $P = 0.02$). Cano等[9]实验结果显示, 乳酸菌能有效地抑制鼠伤寒沙门菌、金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、产气荚膜梭菌、艰难梭菌等致病菌的繁殖, 国内学者[10]研究发现, 肠内免疫微生态营养可通过减轻肠道内毒素易位, 减轻全身性炎症反应.

谷氨酰胺目前认为是一种条件必须氨基酸, 既能为氨基酸、蛋白质、核酸提供氮源, 又能被氧化释放能量. 如果机体持续处于应激状态, 例如创伤、感染、烧伤、大手术、放化疗等, 体内谷氨酰胺消耗大于合成, 如果外源性谷氨酰胺补充不足, 机体就会处于谷氨酰胺缺乏状态, 对机体造成各方面的损伤[11]. 谷氨酰胺通过对肠黏膜细胞和组织的保护作用, 抗炎和免疫调节作用, 对组织代谢的维护作用, 抗氧化损伤作用以及减少诱生型一氧化氮合成酶表达等机制产生对肠屏障功能的保护[12]. Kozar等[13]通过空肠结扎与缺血/再灌注模型发现谷氨酰胺组减少肠黏膜损伤, 保持较完整的肌动蛋白骨架, 较高的组织ATP水平及较低的肠黏膜通透性. Melis等[14]研究发现, 谷氨酰胺对免疫系统以及维护正常的肠黏膜屏障功能起着重要的作用. 其不仅可保护机体免疫细胞, 补充外源性Gin, 促进蛋白质合成, 减轻肌肉蛋白分解, 改善氮平衡, 而且还可减少药物对肝的损伤.

结直肠癌的患者术前通常存在不同程度的营养不良及负氮平衡, 有的患者C反应蛋白水平高于正常, 加上手术及围手术期的处理, 可以加重患者的应激反应. 术前给予肠内营养能够最大程度上纠正负氮平衡, 保证患者术前能量及营养成分的供应并可以维持肠黏膜细胞结构和功能的完整性, 维护肠黏膜屏障, 减少肠源性感染的发生, 减轻肝负担, 刺激消化液和胃肠道激素分泌, 促进胆囊收缩, 增加内脏血流, 使代谢更合理, 有利于减轻术后应激反应[15-18].

总之, 应用免疫微生态营养代替传统3 d法肠道准备, 在保证其有效性及安全性的前提下, 避免了传统肠道准备的机械灌肠和腹泻对肠道黏膜上皮直接的刺激和破坏, 维护了肠道微生态环境, 从而一定程度上保护了肠黏膜屏障, 对

■同行评价
本文目的明确, 实验方法合理, 获得的结论对指导临床围手术期治疗和术后用膳具有一定的指导意义.

减轻术后早期全身炎性反应及加快肠道免疫功能的恢复起到了积极的作用.

4 参考文献

1 谢松, 孟荣贵, 于恩达, 崔龙, 傅传刚, 王靖, 王颢, 喻德洪. 选择性结直肠手术前三种肠道准备方案的对照研究. 中华普通外科杂志 2002; 17: 69-71
2 Berg RD. Bacterial translocation from the gastrointestinal tract. *Adv Exp Med Biol* 1999; 473: 11-30 [PMID: 10659341 DOI: 10.1007/978-1-4615-4143-1_2]
3 Nichols RL, Smith JW, Garcia RY, Waterman RS, Holmes JW. Current practices of preoperative bowel preparation among North American colorectal surgeons. *Clin Infect Dis* 1997; 24: 609-619 [PMID: 9145734 DOI: 10.1093/clind/24.4.609]
4 陈侃, 季巧金, 王时南. 大肠癌术前肠道准备临床研究. 中国实用外科杂志 2007; 27: 893-894
5 Alverdy JC, Spitz J, Hecht G, Ghandi S. Causes and consequences of bacterial adherence to mucosal epithelia during critical illness. *New Horiz* 1994; 2: 264-272 [PMID: 7922452]
6 秦环龙, 梁勇. 肠道微生态变化及临床应用. 中国普外基础与临床杂志 2011; 18: 1237-1241
7 Rayes N, Seehofer D, Müller AR, Hansen S, Bengmark S, Neuhaus P. [Influence of probiotics and fibre on the incidence of bacterial infections following major abdominal surgery - results of a prospective trial]. *Z Gastroenterol* 2002; 40: 869-876 [PMID: 12436353 DOI: 10.1055/s-2002-35259]
8 Nomura T, Tsuchiya Y, Nashimoto A, Yabusaki H, Takii Y, Nakagawa S, Sato N, Kanbayashi C, Tanaka O. Probiotics reduce infectious complications after pancreaticoduodenectomy. *Hepatogastroenterology* 2007; 54: 661-663 [PMID: 17591036]
9 Cano PG, Perdigón G. Probiotics induce resistance to enteropathogens in a re-nourished mouse model. *J Dairy Res* 2003; 70: 433-440 [PMID: 14649414 DOI: 10.1017/S0022029903006472]
10 白黎智, 康利民, 路小光, 康新, 范治伟, 纪春阳. 肠内免疫微生态营养对重症急性胰腺炎肝损害的影响. 世界华人消化杂志 2010; 18: 616-620
11 喻文立. 谷氨酰胺的肠屏障保护功能研究进展. 中国医药 2007; 2: 316-318
12 Wischmeyer PE. The glutamine story: where are we now? *Curr Opin Crit Care* 2006; 12: 142-148 [PMID: 16543791 DOI: 10.1097/01.ccx.0000216582.87674.a4]
13 Kozar RA, Schultz SG, Bick RJ, Poindexter BJ, DeSoignie R, Moore FA. Enteral glutamine but not alanine maintains small bowel barrier function after ischemia/reperfusion injury in rats. *Shock* 2004; 21: 433-437 [PMID: 15087819 DOI: 10.1097/00024382-200405000-00006]
14 Melis GC, ter Wengel N, Boelens PG, van Leeuwen PA. Glutamine: recent developments in research on the clinical significance of glutamine. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2004; 7: 59-70 [PMID: 15090905 DOI: 10.1097/00075197-200401000-00011]
15 Bozzetti F, Braga M, Gianotti L, Gavazzi C, Mariani L. Postoperative enteral versus parenteral nutrition in malnourished patients with gastrointestinal cancer: a randomised multicentre trial. *Lancet* 2001; 358: 1487-1492 [PMID: 11705560 DOI: 10.1016/S0140-6736(01)06578-3]
16 梁秋实, 赵滢, 王强. 谷氨酰胺强化早期肠内营养对胃癌患者术后营养及免疫功能的影响. 山东医药 2009; 49: 46-48
17 赵宗刚, 詹文华, 彭俊生, 尹勇, 赵晓雷. 肠内营养制剂在结直肠癌术前肠道准备中的应用. 肠外与肠内营养 2004; 11: 174-176
18 陈思曾, 刘新, 林永堃, 黄宏双. 术后早期肠内营养对结直肠癌患者营养状态、免疫功能及应激反应的影响. 福建医科大学学报 2007; 41: 264-267

编辑 田滢 电编 闫晋利

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费. 审稿周期及发表周期不变. (《世界华人消化杂志》编辑部)

世界华人消化杂志 2013年4月8日; 21(10): 945-950
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

系统性红斑狼疮合并假性肠梗阻的临床特点及预后

杨 敏, 梁胜翔, 周润华, 莫汉有

杨敏, 周润华, 莫汉有, 桂林医学院附属医院风湿免疫科 广西壮族自治区桂林市 541001
梁胜翔, 空军空降兵学院门诊部 广西壮族自治区桂林市 541003
杨敏, 主治医师, 主要从事风湿免疫病的基础与临床研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81160376
广西壮族自治区卫生厅课题基金资助项目, No. Z2010303
作者贡献分布: 本课题由杨敏、周润华及莫汉有共同设计; 研究过程由杨敏、梁胜翔、周润华及莫汉有完成; 资料收集整理与数据统计由梁胜翔完成; 本论文写作由杨敏完成.
通讯作者: 莫汉有, 教授, 主任医师, 541001, 广西壮族自治区桂林市秀峰区乐群路15号, 桂林医学院附属医院风湿免疫科.
liangyangmin@163.com
电话: 0773-2815170
收稿日期: 2013-02-24 修回日期: 2013-03-13
接受日期: 2013-03-14 在线出版日期: 2013-04-08

Clinical characteristics and prognosis of patients with systemic lupus erythematosus with intestinal pseudo-obstruction

Min Yang, Sheng-Xiang Liang, Run-Hua Zhou, Han-You Mo

Min Yang, Run-Hua Zhou, Han-You Mo, Department of Rheumatology, Affiliated Hospital of Guilin Medical College, Guilin 541001, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Sheng-Xiang Liang, Outpatient Department, Air Force Airborne Academy, Guilin 541003, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 81160376; the Scientific Research Foundation of Health Department of Guangxi Province, No. Z2010303
Correspondence to: Han-You Mo, Professor, Chief Physician, Department of Rheumatology, Affiliated Hospital of Guilin Medical College, 15 Lequn Road, Xiufeng District, Guilin 541001, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. liangyangmin@163.com
Received: 2013-02-24 Revised: 2013-03-13
Accepted: 2013-03-14 Published online: 2013-04-08

Abstract

AIM: To analyze the clinical data for patients with systemic lupus erythematosus (SLE) with intestinal pseudo-obstruction (IPO) to improve the understanding of this condition.

METHODS: The clinical data for eight patients with SLE with IPO were retrospectively reviewed to analyze the clinical manifestations, auxiliary examination, therapy and prognosis of this disease.

RESULTS: There were 1 male and 7 females. The average age at the onset of disease was 35 years (range 20-52). The average course from initiation of clinical symptoms to diagnosis was 36 mo. Two patients with intestinal obstruction as the first presentation were misdiagnosed with ulcerative colitis and enteritis, respectively. Six (6/8) cases had renal involvement, 5 (5/8) had hematological system involvement, 5 (5/8) had skin abnormality, and 4 (4/8) had cardiovascular system involvement. Four (4/8) cases had cholecystitis, 4 (4/8) had gastrointestinal bleeding, 4 (4/8) had ascites, and 1 (1/8) had central nervous system involvement. All cases (8/8) were positive for ANA and had hypocomplementemia and higher erythrocyte sedimentation rate. Six (6/8) cases were positive for anti-dsDNA. Glucocorticoid was used for therapy in 6 (6/8) cases and all of them got recovered. There were 2 (2/8) deaths, one for intestinal perforation and the other for surgical intervention.

CONCLUSION: IPO is one of the most serious complications of SLE, which is usually associated with multisystem involvement. People with SLE would encounter with abnormalities in immunologic tests. Early diagnosis and timely use of glucocorticoid are of great importance in controling the disease, improving prognosis, and avoiding inappropriate surgical intervention.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Lupus erythematosus; Systemic; Intestinal pseudo-obstruction

Yang M, Liang SX, Zhou RH, Mo HY. Clinical characteristics and prognosis of patients with systemic lupus erythematosus with intestinal pseudo-obstruction. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(10): 945-950 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/945.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i10.945

摘要

目的: 分析系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)合并假性肠梗阻(intestinal

■背景资料
假性肠梗阻是系统性红斑狼疮较少见的并发症之一, 系统性红斑狼疮合并假性肠梗阻发病急、进展快, 可出现肠穿孔等严重并发症而危及患者生命. 感染是其死亡的主要原因, 尤其是行手术治疗的患者, 病死率更高.

■同行评议者
姚登福, 教授, 南通大学附属医院; 周翔宇, 副主任医师, 泸州医学院附属医院血管甲状腺外科; 蒋敬庭, 教授, 常州市第一人民医院(苏州大学附属第三医院)肿瘤生物诊疗中心

■研发前沿
系统性红斑狼疮合并假性肠梗阻在临床上容易误诊, 除合并有肠穿孔外, 手术治疗效果并不理想. 如何早期诊断避免漏诊及误诊, 并早期使用糖皮质激素及免疫抑制剂治疗, 是目前研究的焦点.

pseudo-obstruction, IPO)患者的临床病例资料, 提高临床医生尤其是消化内科及外科医生对本病的认识.

方法: 收集8例SLE合并肠梗阻患者的临床资料, 并对其临床表现、辅助检查、治疗及预后等特点进行回顾性分析.

结果: 8例患者中男1例, 女7例, 发病年龄20-52岁, 平均35岁, 平均病程36 mo. 以肠梗阻为首发症状者2例(2/8), 入院前被误诊为急性肠炎和溃疡性结肠炎. 8例患者中肾脏累及者6例(6/8), 血液系统累及者5例(5/8), 皮肤病变5例(5/8), 循环系统累及者4例(4/8), 胆囊炎4例(4/8), 消化道出血4例(4/8), 腹水4例(4/8), 中枢神经系统累及者1例(1/8). 8例患者中抗核抗体(+)8例(8/8), 抗dsDNA抗体(+)6例(6/8), 所有病例均有补体水平下降及血沉升高(8/8). 8例患者中6例使用糖皮质激素治疗均好转出院, 死亡2例, 1例并发肠穿孔死亡, 1例行剖腹探查并部分小肠切除术, 术后死亡.

结论: IPO是SLE严重的并发症之一, 常伴有其他脏器受累, 免疫学检查多有异常. 早期诊断并及早使用肾上腺糖皮质激素干预治疗对于控制病情及改善预后很重要, 可避免不必要的手术治疗.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 红斑狼疮; 系统性; 假性肠梗阻

核心提示: 免疫相关及影像学检查, 可避免对系统性红斑狼疮合并假性肠梗阻患者误诊及漏诊. 早期使用肾上腺皮质激素及加用免疫抑制剂是治疗关键, 应尽量避免不必要的手术干预.

杨敏, 梁胜翔, 周润华, 莫汉有. 系统性红斑狼疮合并假性肠梗阻的临床特点及预后. 世界华人消化杂志 2013; 21(10): 945-950 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/945.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i10.945

0 引言

系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)是一种多系统、多器官损害为特征的自身免疫病, 以肾脏、心、肺、血液系统等损害常见. 假性肠梗阻(intestinal pseudo obst ruction, IPO)是SLE较少见的并发症之一, 国内外仅见少量文献报道[1-7]. SLE合并IPO发病急、病情进展快, 可出现肠穿孔等严重并发症而危及生命[8]. 早期诊断, 并采取及时有效的处理是控制病情的关键, 可避免不必要的外科手术治疗, 明显降低病死率[9]. 本研究回顾性总结8例SLE合并IPO患者的临床资料, 分析其临床特征, 总结其治疗方法, 以引起临床医生尤其是消化内科及外科医生对本病的重视, 提高对本病的诊治水平.

1 材料和方法

1.1 材料 采用回顾性研究方法, 收集2006-07/2012-07在桂林医学院附属医院消化内科、胃肠外科及风湿科诊治的患者资料, 最后确诊SLE合并IPO并随后在风湿科门诊随访的患者8例.

1.2 方法

1.2.1 病例入选标准: 同时符合SLE及IPO诊断分类标准, SLE诊断符合1982年美国风湿病学会修订的SLE分类标准[10], IPO的诊断标准包括临床上有肠梗阻的症状和体征、腹平片证实有肠梗阻、有关检查排除了机械性肠梗阻[11].

1.2.2 病例剔除标准: 排除合并其他结缔组织病和恶性肿瘤, 排除既往有腹部手术病史者, 病例资料不完整及失访的患者.

1.2.3 记录内容: 患者一般情况、临床症状及体征、血清学及影像学检查、胃肠镜及病理结果, 治疗方案及随访资料.

2 结果

2.1 患者一般情况 女7例, 男1例, 年龄20-52岁, 平均35岁, 病程6 mo-8年, 平均36 mo.

2.2 临床表现

2.2.1 首发表现: 2例以肠梗阻为首发症状, 另外6例分别有2例发热、2例蛋白尿、1例关节痛、1例面部红斑为首发症状, 其后在病程中出现肠梗阻表现(表1).

2.2.2 肠梗阻表现: 腹痛、腹胀, 恶心、呕吐及停止排气、排便或者腹泻等表现.

2.2.3 病程中各系统受累情况: 除肠梗阻症状外, 其他消化系症状: 胆囊炎4例(4/8), 消化道出血4例(4/8), 腹水4例(4/8), 肠穿孔1例(1/8). 肾脏受累6例(6/8), 关节痛6例(6/8), 血液系统受累5例(5/8), 皮肤黏膜受累5例(5/8), 循环系统受累4例(4/8), 呼吸系统受累3例(3/8), 中枢神经系统受累1例(1/8)(表1).

6例肾脏累及者肾功能均正常, 24 h尿蛋白定量均>0.5 g, 其中3例定量>3.5 g, 2例有镜下血尿; 5例血液系统累及, 4例贫血, 2例溶血性贫血, 3例同时伴有白细胞及血小板减少; 5例皮肤黏膜受累, 4例颜面部红斑, 1例口腔溃疡; 4例循环

表 1 系统性红斑狼疮合并假性肠梗阻临床特点和治疗方案及预后分析

病例序号	性别	年龄	首发症状	其他系统受累情况	泌尿系统病变	初始治疗	免疫抑制剂	预后
1	女	20	肠梗阻	血液、关节	+	甲泼尼龙针	环磷酰胺针	好转
				呼吸、腹水		40 mg	硫唑嘌呤	复发2次
2	女	28	发热	血液、皮肤	+	甲泼尼龙针	环磷酰胺针	好转
				尿蛋白		40 mg	硫唑嘌呤	稳定
3	女	35	尿蛋白	皮肤、循环、	–	甲泼尼龙针	环磷酰胺针	好转
				呼吸		80 mg	来氟米特	稳定
4	女	38	面部红斑	血液、关节	+	手术治疗	–	死亡
				呼吸、腹水				
5	女	24	肠梗阻	关节、腹水、	+	甲泼尼龙针	环磷酰胺针	好转
				循环、中枢神经、		500 mg	吗替麦考酚酯	稳定
				尿蛋白				
6	男	35	蛋白尿	血液、关节、	+	甲泼尼龙针	环磷酰胺针	好转
				口腔溃疡		40 mg	来氟米特	稳定
7	女	52	关节痛	血液、皮肤、循	+	并发肠穿孔	–	死亡
				环、腹水、尿蛋白				
8	女	45	发热	关节、皮肤、循	–	甲泼尼龙针	环磷酰胺针	好转
				环、尿蛋白		40 mg	硫唑嘌呤	复发1次

表 2 8例系统性红斑狼疮合并肠梗阻的实验室检查结果

项目	抗核抗体	dsDNA	抗心磷脂抗体	免疫球蛋白	补体	血沉	类风湿因子	尿蛋白	白蛋白	肝功异常	贫血	WBC/PLT	泌尿系统超声
检查例数(*n*)	8	8	7	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
阳性例数(*n*)	8	6	2	3	8	8	2	6	6	3	4	3	6
阳性率(%)	100	75	28.6	37.5	100	100	25	75	75	37.5	50	37.5	75

系统累及, 2例胸片提示心影增大, 1例心脏彩色多普勒超声提示肺动脉高压, 少量心包积液, 3例心电图异常, 2例T波低平, 1例窦性心动过速; 3例呼吸系统累及, 2例肺高分辨率CT提示有肺间质病变, 2例同时伴有少量胸腔积液, 2例合并有肺部感染; 中枢神经系统累及者1例表现为癫痫及头痛, 并行脑脊液检查排除中枢神经系统感染.

2.3 血清学检查结果 8例患者4例血红蛋白<100 g/L, 2例抗人球蛋白试验阳性, 3例同时伴有白细胞<4×10^9/L及血小板计数<100×10^{12}/L减少. 6例白蛋白水平降低者, 3例肝功能异常者, 8例肾功能均正常. 6例曾有低钾、低钠、低氯血症. 8例血沉(erythrocyte sedimentation rate, ESR)>20 mm/1 h及C反应蛋白>10 mg/L均升高(表2).

2.4 免疫相关检查 免疫球蛋白: 2例IgG升高, 1例IgM升高者; 补体: 5例C3、C4均下降, 3例仅C3降低; 类风湿因子: 2例阳性(>20 U/mL); 自身抗体: 8例抗核抗体(antinuclear antibody, ANA)滴度均>1: 320阳性, 4例颗粒型, 2例核糖体型, 1例周边型, 1例胞质型; 6例抗ds-DNA抗体阳性; 2例抗Sm抗体(+); 3例抗SSA抗体(+); 1例抗SSB抗体(+); 3例抗RNP抗体(+); 2例抗β2糖蛋白(β2GP1)抗体(+)(表2).

2.5 影像学及内镜检查结果 腹部X平片检查8例患者均见大小不等多个气液平面, 部分肠腔扩张, 肠腔积气, 其中1例伴有膈下游离气体; 腹部CT检查4例发现3例肠系膜血管造影增强扫描强化明显, 延迟扫描仍可见强化小血管影, 1例小肠壁增厚; 2例行胃镜检查发现胃黏膜皱襞粗大, 表面充血水肿, 病理均为黏膜非特异性炎症; 2例行肠镜检查有1例直肠黏膜溃疡缺损, 1例结肠多发性溃疡; 8例行泌尿系B超检查, 6例提示双肾盂积水, 4例同时伴输尿管扩张的, 输尿管内径最大为11 mm, 1例输尿管壁增厚、毛糙; 2例行静脉肾盂造影, 提示膀胱不充盈; 胆囊超声发现4例胆囊壁增厚、毛糙.

2.6 病理检查结果 1例患者曾行剖腹探查及小肠部分切除术, 病理报告显示小肠黏膜灶性溃疡和糜烂, 肠黏膜层破坏, 缺损周围有纤维沉着及

■相关报道

De Giorgio等的研究表明, 慢性假性肠梗阻仅仅是胃肠功能紊乱的冰山一角, 该病少见且频繁地被误诊, 预后往往也不佳. 诊断主要依靠临床特征、病史及影像学检查. 外科手术是不得已而为之的治疗选择.

■创新盘点

本文旨在对系统性红斑狼疮合并假性肠梗阻患者的临床表现、辅助检查、治疗及预后等临床资料进行回顾性分析, 为诊断及治疗提供新思路, 完善相关的免疫学检查可避免误诊及漏诊, 及早使用肾上腺糖皮质激素干预治疗对于控制病情及改善预后很重要, 可避免不必要的手术治疗.

炎性细胞浸润, 黏膜下层血管扩张和充血, 部分血管内皮呈多层, 部分血管阻塞, 提示血管炎.

2.7 治疗情况

2.7.1 对症支持治疗: 禁食, 胃肠减压, 抑制消化腺分泌, 控制感染, 纠正酸碱平衡及水电解质紊乱, 肠外营养等支持治疗.

2.7.2 肾上腺皮质激素: 病情评估后予不同剂量的糖皮质激素: 甲泼尼龙针(MP)40-500 mg/d, 症状好转后激素逐渐减量.

2.7.3 免疫抑制剂治疗: 病情评估后使用环磷酰胺(CTX)200 mg/隔日或者400-600 mg/wk等方案治疗.

2.7.4 外科手术治疗: 1例患者进行剖腹探查及小肠部分切除术, 1例患者因肠穿孔拟进行外科手术治疗, 但在送往手术室途中死亡.

2.7.5 维持治疗方案: 6例患者皆在3 d内症状明显缓解, 梗阻症状控制后, 常规环磷酰胺400-800 mg/mo静脉滴注, 定期专科随诊, 调整激素及加用环磷酰胺、硫唑嘌呤、羟氯喹、环孢素A和吗替麦考酚酯等免疫抑制剂.

2.8 随访及预后情况 8例患者中6例治疗后好转出院, 死亡2例, 其中1例并发肠穿孔在送往手术室途中死亡, 1例外科手术后死于肺部感染伴心功能不全. 随访6例患者, 随访时间半年至5年, 平均随访24 mo. 3例病情平稳, 2例在1-4年随访期间, 再次出现IPO发作1-2次, 同样治疗效果好. 预后: 病情稳定4例, IPO反复发作2例, 死亡2例(表1).

3 讨论

IPO是指由各种因素引起的以肠道运动功能障碍为特征的临床综合征, 消化系症状有腹痛、腹胀、便秘或腹泻、肛门停止排气或排便等表现, 而无机械性梗阻的证据[9]. 国外多项研究[12-14]发现SLE合并IPO的发生率为3.8%-5.2%. 肠梗阻可以是SLE的首发表现之一, 也可是病程中的一种并发症, 临床上以肠梗阻为突出表现的SLE并不多见[15]. 目前, SLE合并IPO的发生机制尚未完全明确, 但多数学者认为其与血管炎及平滑肌病变密切相关[1,16,17]: 炎性细胞浸润导致组织损伤及免疫复合物在小血管壁沉积引起慢性缺血, 导致肠道平滑肌纤维化和萎缩, 平滑肌病变除继发于SLE血管炎外, 或有针对平滑肌的自身抗体, 导致平滑肌的运动障碍. 此外, 我们研究发现SLE合并IPO患者均出现不同程度的低补体血症, 接受糖皮质激素治疗后消化系症状能够迅速改善, 提示其病因是免疫复合物介导的血管炎, 这与Narváez等[18]的研究结果一致. 本研究中1例进行小肠切除术患者, 术后病理报告提示肠道血管炎, 4例行腹部CT增强扫描, 3例肠系膜血管造影强化明显, 延迟扫描仍可见强化小血管影, 1例小肠壁增厚, 亦支持上述血管炎及平滑肌病变致病假说. 本研究发现, 除消化系外最常受累就是泌尿系统, 本组8例患者中6例提示双肾盂积水, 同时伴输尿管扩张的4例, 2例行静脉肾盂造影, 提示膀胱不充盈, 与Perlemuter等[16]报道肾盂积水、输尿管扩张, 膀胱容积缩小等改变一致. Kornu等[19]认为IPO与泌尿系统症状密切相关, 两者存在共同的发病机制, 免疫复合物在肠道和膀胱的血管壁沉积, 这是引起肠道及膀胱输尿管平滑肌病变的原因. Ceccato等[20]总结了27例SLE合并IPO患者的临床资料, 发现肾盂输尿管积水伴膀胱挛缩的发生率高达63%, 由此可见SLE合并IPO患者输尿管、膀胱受累发生率高. 有学者[4,21]提出IPO、间质性膀胱炎和肾盂输尿管积水可以单独或合并出现, 上述改变是SLE内脏平滑肌受累在不同器官的表现.

临床上部分SLE患者以腹痛、腹泻等消化系症状为主诉, 容易误诊. 国内早期研究[22]显示以胃肠病变为首发或主要表现的SLE表现不具特异性, 此类患者误诊率高达88.6%, 最易误诊为感染性疾病, 其次为系统性硬化症、溃疡性结肠炎、过敏性紫癜等其他自身免疫病, 少数误诊为恶性肿瘤. 多项研究表明, 约10%的SLE患者以消化系症状为首发表现[23-25], 以IPO为首发表现时, 发病急、病程短, 其他临床表现不典型, 患者易被误诊从而接受手术治疗, 病死率高达35%[26]. 本研究中以肠梗阻为首发表现的2例SLE患者, 分别被误诊为急性肠炎和溃疡性结肠炎. 文献报道[27]SLE消化系症状中除了肠梗阻还可以出现有胆囊炎、腹水、消化道出血及肠穿孔等症状, 本组资料显示各有4例患者分别出现胆囊炎、腹水、消化道出血, 1例患者并发肠穿孔, 和上述文献报道相符. 此外, 本组资料还显示2例胃黏膜皱襞粗大, 2例肠黏膜溃疡, 4例胆囊壁增厚、毛糙. 国内刘晓红等[28]研究显示5例IPO患者行胃镜检查, 4例有胃黏膜皱襞粗大征象, 结肠镜检查4例, 其中2例黏膜水肿, 与我们研究类似. Pardos-Gea等[27]及Kansal等[15]报道SLE合并IPO的患者均有胆道系统受累, 但其发生机制尚未明确.

本研究显示SLE合并IPO患者除了肠梗阻

症状, 还常伴有肾脏、皮肤、关节、血液系统、循环系统等其他系统受累表现, 且多伴有免疫学检查异常, 8例患者中ANA(+)8例(8/8), 抗dsDNA抗体(+)6例(6/8), 所有病例均有补体下降及血沉升高(8/8). Ceccato等[20]报道的4例SLE合并IPO患者, 发现全部患者均有免疫学检查异常, 与本研究结果相似. 这提示临床医生在常规疗法治疗肠梗阻效果不佳时, 免疫学检查有重要的鉴别诊断价值. 影像学检查对本病诊断有重要辅助价值, 除了腹部X线检查是诊断肠梗阻必需要做检查外, CT增强扫描对肠系膜血管及肠壁等病变的诊断有重要的价值[29]. 本病早期诊断的关键在于医生的警觉和患者对本病的认知程度[1]. 故风湿免疫科医护工作者在疾病宣教过程需向患者强调, SLE是多系统受累的疾病, 在出现其他系统症状时需要警惕是否是SLE并发症之一, 一旦出现肠梗阻的类似症状要及时就诊, 就诊过程中提醒接诊医生有SLE病史. 本研究中就有2例患者在就诊时强调有SLE病史, 首诊医生及时请风湿科医生会诊并转专科治疗, 治疗效果很好. 另外急诊科或者外科医生在接诊过程中仔细询问病史, 有无其他系统基础疾病, 除了消化系症状及体征外, 是否还伴有皮疹、口腔溃疡、关节疼痛、尿蛋白及血液系统损害等表现, 单用肠梗阻无法解释的症状, 且常规治疗疗效不满意时应及时调整诊断思路, 进行免疫相关及影像学的检查, 可避免误诊及漏诊.

本研究中8例患者, 好转6例, 死亡2例, 死亡率25%, 与Mok等[8]报道的27.8%相近. 6例治疗后好转出院的患者均使用肾上腺皮质激素, 预后都很好, 分析这6例患者治疗方案, 所有患者均使用甲泼尼龙针40-80 mg/d, 连续使用3-5 d后大多数患者症状明显缓解, 病情严重者短期内使用甲泼尼龙针冲击治疗, 症状缓解后激素逐渐减量, 辅以禁食、胃肠减压、抑制消化液分泌及液体疗法, 皆在3-5 d内症状明显缓解. 根据病情评估后均在不同时期加用免疫抑制剂, 尤其在缓解期间使用小剂量激素、环磷酰胺、硫唑嘌呤、羟氯喹、环孢素A和吗替麦考酚酯等改善病情的药物是控制病情及避免复发的关键[18]. 本研究中2例病程中出现IPO复发的患者, 均因个人原因自行停药, 导致疾病复发, 这也从侧面验证肠梗阻往往与疾病活动相关或者是疾病复发的前兆. 2例随访过程中反复发作IPO使用肾上腺皮质激素及免疫抑制剂治疗后症状均缓解, 提示本病一定要及早应用足量激素加免疫抑制剂方可获满意疗效. SLE并发IPO手术效果极差, 应尽量避免手术治疗, 术后出现肠麻痹可加重肠道运动功能障碍, 并诱发SLE活动, 使病情恶化[20]. 本研究中1例肠梗阻患者进行外科手术及小肠切除术, 术后并发肺部感染伴心功能不全死亡. 国内外多个研究中心[1,20]均强调, 除了禁食及胃肠减压等常规治疗外, 早期使用肾上腺皮质激素及加用免疫抑制剂是治疗关键, 应尽量避免不必要的手术干预.

总之, SLE伴发IPO是一种少见但进展迅速的急症之一, 肠道血管炎及平滑肌病变是其发生病理基础. 对育龄期女性出现肠梗阻症状, 需仔细询问病史, 了解有无其他系统受累情况, 完善免疫相关检查, 警惕系统性红斑狼疮并发肠道病变, 避免漏诊及误诊. 早期使用糖皮质激素及免疫抑制剂, 可以明显改善患者预后, 除合并有肠穿孔外应尽量避免手术治疗.

■应用要点

临床上部分SLE患者以胃肠病变为主要表现, 不具特异性, 此类患者误诊率极高. 本研究发现, 进行免疫相关及影像学检查, 可避免误诊及漏诊, 为临床早期使用肾上腺糖皮质激素干预治疗, 控制病情及改善患者预后提供理论依据.

4 参考文献

1 Zhang J, Fang M, Wang Y, Mao J, Sun X. Intestinal pseudo-obstruction syndrome in systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2011; 20: 1324-1328 [PMID: 21680640 DOI: 10.1177/0961203311405702]

2 Zietkiewicz M, Smoleńska Z, Zdrojewski Z. [Gastrointestinal manifestations of systemic lupus erythematosus. Case report]. *Ann Acad Med Stetin* 2010; 56 Suppl 1: 52-57 [PMID: 21365942]

3 Nguyen H, Khanna N. Intestinal pseudo-obstruction as a presenting manifestation of systemic lupus erythematosus: case report and review of the literature. *South Med J* 2004; 97: 186-189 [PMID: 14982272 DOI: 10.1097/01.SMJ.0000087197.59817.AF]

4 Ghannouchi Jaafoura N, Khalifa M, Atig A, Ben Jazia E, Alaoua A, Braham Krifa A, Letaief A, Bahri F. [Chronic intestinal pseudo-obstruction in systemic lupus erythematosus]. *Rev Med Interne* 2011; 32: e1-e3 [PMID: 21035926 DOI: 10.1016/j.revmed.2010.03.458.]

5 杨迅. 以假性肠梗阻为首发症状的系统性红斑狼疮7例临床分析. 首都医科大学学报 2012; 31: 824-825

6 宋书宁, 刘爱武, 李伟男. 以假性肠梗阻起病的系统性红斑狼疮临床分析(附4例报告). 北京医学 2012; 34: 872-873

7 黄晓梅, 李开龙. 以假性肠梗阻为首发症状的系统性红斑狼疮1例. 第三军医大学学报 2008; 30: 287-288

8 Mok MY, Wong RW, Lau CS. Intestinal pseudo-obstruction in systemic lupus erythematosus: an uncommon but important clinical manifestation. *Lupus* 2000; 9: 11-18 [PMID: 10713642]

9 De Giorgio R, Cogliandro RF, Barbara G, Corinaldesi R, Stanghellini V. Chronic intestinal pseudo-obstruction: clinical features, diagnosis, and therapy. *Gastroenterol Clin North Am* 2011; 40: 787-807 [PMID: 22100118 DOI: 10.1016/j.gtc.2011.09.005.]

10 Tan EM, Cohen AS, Fries JF, Masi AT, Mcshane DJ, Rothfield NF,. Schaller JG, Talal N, Winchester RJ. The 1982 revised criteria for the classification of sys-

■名词解释

假性肠梗阻(IPO): 由各种因素引起的以肠道运动功能障碍为特征的临床综合征, 消化系症状有腹痛、腹胀、便秘或腹泻、肛门停止排气或排便等表现, 而无机械性梗阻的证据.

■同行评价

本研究选题尚可，内容重要，资料详实，有助于提高临床医生对系统性红斑狼疮合并假性肠梗阻的认识，减少对本病误诊及漏诊，具有较好临床指导意义.

temic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1982; 25: 1271-1277 [DOI: 10.1002/art.1780251101]

11 方秀才, 柯美云, 刘晓红, 杨爱明, 王智凤, 董梅, 赵荣国. 慢性假性肠梗阻的临床特征和诊断. 中华内科杂志 2001; 10: 666-669

12 Chen YQ, Xue Q, Wang NS. Visceral muscle dysmotility syndrome in systemic lupus erythematosus: case report and review of the literature. *Rheumatol Int* 2012; 32: 1701-1703 [PMID: 21431943 DOI: 10.1007/s00296-011-1856-4]

13 Chng HH, Tan BE, Teh CL, Lian TY. Major gastrointestinal manifestations in lupus patients in Asia: lupus enteritis, intestinal pseudo-obstruction, and protein-losing gastroenteropathy. *Lupus* 2010; 19: 1404-1413 [PMID: 20947549 DOI: 10.1177/0961203310374337]

14 De Giorgio R, Ricciardiello L, Naponelli V, Selgrad M, Piazzi G, Felicani C, Serra M, Fronzoni L, Antonucci A, Cogliandro RF, Barbara G, Corinaldesi R, Tonini M, Knowles CH, Stanghellini V. Chronic intestinal pseudo-obstruction related to viral infections. *Transplant Proc* 2010; 42: 9-14 [PMID: 20172270 DOI: 10.1016/j.transproceed.2009.12.014.]

15 Kansal A, Jain A, Thenozhi S, Agarwal V. Intestinal pseudo-obstruction associated with biliary tract dilatation in a patient with systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2013; 22: 87-91 [PMID: 23104391 DOI: 10.1177/0961203312464091]

16 Perlemuter G, Chaussade S,Wechsler B, Cacoub P, Dapoigny M, Kahan A, Godeau P, Couturier D. Chronic intestinal pseudo-obstruction in systemic lupus erythematosus. *Gut* 1998; 43: 117-122 [DOI: 10.1136/gut.43.1.117]

17 Hill PA, Dwyer KM, Power DA. Chronic intestinal pseudo-obstruction in systemic lupus erythematosus due to intestinal smooth muscle myopathy. *Lupus* 2000; 9: 458-463 [PMID: 10981652]

18 Narváez J, Pérez-Vega C, Castro-Bohorquez FJ, Garcia-Quintana AM, Biosca M, Vilaseca-Momplet J. Intestinal pseudo-obstruction in systemic lupus erythematosus. *Scand J Rheumatol* 2003; 32: 191-195 [PMID: 12892261]

19 Kornu R, Oliver QZ, Reimold AM. Recognizing concomitant lupus enteritis and lupus cystitis. *J Clin Rheumatol* 2008; 14: 226-229 [PMID: 18766123 DOI: 10.1097/RHU.0b013e318181a8ec.]

20 Ceccato F, Salas A, Góngora V, Ruta S, Roverano S, Marcos JC, Garcìa M, Paira S. Chronic intestinal pseudo-obstruction in patients with systemic lupus erythematosus: report of four cases. *Clin Rheumatol* 2008; 27: 399-402 [PMID: 17938989]

21 Zhang G, Li H, Huang W, Li X, Li X. Clinical features of lupus cystitis complicated with hydroureteronephrosis in a Chinese population. *J Rheumatol* 2011; 38: 667-671 [PMID: 21239742 DOI: 10.3899/jrheum.100617]

22 张烜, 曾学军, 董怡, 陆星华, 李明佳. 系统性红斑狼疮的消化系统临床表现157例分析. 中华消化杂志 1999; 19: 42-44

23 Chen YY, Yen HH, Hsu YT. Intestinal pseudo-obstruction as the initial presentation of systemic lupus erythematosus: the need for enteroscopic evaluation. *Gastrointest Endosc* 2005; 62: 984-987 [PMID: 16301053]

24 Kovacević Z, Rabrenović V, Jovanović D, Petrović M, Rabrenović M, Matunović R. [Gastrointestinal symptomatology as first manifestation of systemic erythematous lupus]. *Vojnosanit Pregl* 2009; 66: 238-241 [PMID: 19341232]

25 Xu D, Yang H, Lai CC, Li P, Zhang X, Yang XO, Zhang FC, Qian JM. Clinical analysis of systemic lupus erythematosus with gastrointestinal manifestations. *Lupus* 2010; 19: 866-869 [PMID: 20410154 DOI: 10.1177/0961203310365883]

26 Kim J, Kim N. Intestinal pseudo-obstruction: initial manifestation of systemic lupus erythematosus. *J Neurogastroenterol Motil* 2011; 17: 423-424 [PMID: 22148114 DOI: 10.5056/jnm.2011.17.4.423]

27 Pardos-Gea J, Ordi-Ros J, Selva A, Perez-Lopez J, Balada E, Vilardell M. Chronic intestinal pseudo-obstruction associated with biliary tract dilatation in a patient with systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2005; 14: 328-330 [PMID: 15864921]

28 刘晓红, 张秋璘, 鲁重美, 杨爱民, 钱家鸣. 系统性红斑狼疮并发的假性肠梗阻. 中华消化杂志 2003; 23: 744-747

29 徐建华. 系统性红斑狼疮的消化系统表现及其诊治. 临床内科杂志 2008; 25: 801-804

编辑 田滢 电编 闫晋利

世界华人消化杂志 2013年4月8日; 21(10): Ⅰ-Ⅴ
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《世界华人消化杂志》投稿须知

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊.

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569)》是一份同行评议和开放获取期刊(Open Access Journal, OAJ), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版. 《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区.

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病学, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章. 最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病学实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平.

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group, BPG)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上. OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊. 论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本. BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑.目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平.

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录. 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号. 《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊.

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

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals). 见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47.

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称. 医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文. 公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录.

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等. 为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上. 中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤). 通常应小写.

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

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量. 如 30 kD改为M_r 30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即A_r(A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体). 计量单位在+、－及-后列出. 在±前后均要列出, 如37.6 ℃±1.2 ℃, 45.6岁±24岁, 56.4 d±0.5 d. 3.56±0.27 pg/ml应为3.56 ng/L±0.27 ng/L. BP用kPa(mmHg), RBC数用1×10^{12}/L, WBC数用1×10^{9}/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. M_r明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm×6 cm×4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO_2结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1×10^{-3} g与5×10^{-7} g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg•d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO_2, 50 mL/L CO_2; 1∶1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45×10^{-6}; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示.

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ^2; (4)样本的

相关系数用英文小写r; (5)自由度用希文小写υ; (6)样本数用英文小写n; (7)概率用英文斜体大写P. 在统计学处理中在文字叙述时平均数±标准差表示为mean±SD, 平均数±标准误为mean±SE. 统计学显著性用$^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套P值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第三套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L±0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6 347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的mean±SD应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g±420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg±0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm±0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48→23.5→24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母≤100, 百分数到个位; 101≤分母≤1 000, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名，按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wcjd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版.

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致.

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号. 格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”.

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码. 例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致.

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象. 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度. 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征. 如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准. 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写*P*, 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值).

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 正文内序号连排用(1), (2), (3). 以下逐条陈述.

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系.

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可.

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论.

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾.

图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …. 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: $^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第3套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$. *P*值后注明何种检验及其具体数字, 如$P<0.01$, $t = 4.56$ *vs* 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用*t*/min, *c*/(mol/L), *p*/kPa, *V*/mL, *t*/℃表达.

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上

角注码号. 如马连生[1]报告……, 潘伯荣等[2-5]认为……; PCR方法敏感性高[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部),书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp

4.2 研究原著写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp

4.3 焦点论坛写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp

4.4 文献综述写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp

4.5 研究快报写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp

4.6 临床经验写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcjy.asp

4.7 病例报告写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx. 无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投稿须知下载网址http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf. 审稿过程平均时间需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审.

6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删节时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有.

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

http: //www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进.

世界华人消化杂志 2013年4月8日; 21(10): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26
美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会
会议地点: 美国旧金山
联系方式: www.gicasym.org

2013-02-10/15
2013年肠道微生物组: 免疫网络效应/法规Keystone Symposia会议
会议地点: 美国
联系方式: info@keystonesymposia.org

2013-02-09/12
美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周(CNW 2013)
会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城
联系方式: http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508

2013-02-22/23
国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会
会议地点: 美国休斯顿
联系方式: http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1]

2013-02-22/23
迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议
会议地点: 美国
联系方式: cme.med.miami.edu/x88.xml

2013-03-01/31
2013年北京第七届疝和腹壁外科国际学术研讨会
会议地点: 北京市
联系方式: zhshfbwkzz@yahoo.com.cn

2013-03-01/04
2013加拿大消化疾病周(CDDW)
会议地点: 加拿大
联系方式: www.cag-acg.org/cddw

2013-03-07/10
亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议
会议地点: 新加坡
联系方式: www.apaslconference.org

2013-03-15/17
2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛
会议地点: 深圳市
联系方式: ewancool@hotmail.com

2013-03-14/16
中部外科学会(CSA)2013年会
会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛
联系方式: http://www.centralsurg.org/meeting/futuremtgs.html

2013-04-12/14
2013中国肛肠创新论坛(CICS)
会议地点: 北京市
联系方式: www.crdinnovation.com

2013-04-19/23
2013第2届国际肿瘤学论坛
会议地点: 瑞士
联系方式: cihexpo@163.com

2013-05-23/25
2013第六届世界癌症大会
会议地点: 西安市
联系方式: bithuiyi@163.com

2013-05-20/22
2013年第三届内分泌与代谢大会
会议地点: 西安市
联系方式: nancy@bitconferences.cn

2013-05-31/06-04
2013美国临床肿瘤协会年会
会议地点: 美国芝加哥
联系方式: yangxinxue999@163.com

2013-06-07/09
中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤营养与支持治疗学术会议
会议地点: 武汉市
联系方式: csonsc@VIP.163.com

2013-06-21/23
中国消化科学术论坛
会议地点: 张家界市
联系方式: casgmail@126.com

2013-07-13/14
中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会
会议地点: 银川市
联系方式: lilyjia@163.com

2014-09-26/30
第39届欧洲临床肿瘤学会年会
会议地点: 西班牙
联系方式: http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html

2013-10-18/20
第二十二届亚太抗癌大会
会议地点: 天津市
联系方式: secretariat@apcc2013.com

世界华人消化杂志 2013年4月8日; 21(10): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

• 志谢 •

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

蔡开琳 副教授
华中科技大学同济医学院附属协和医院普通外科

崔云甫 教授
哈尔滨医科大学第二附属医院普外一科

杜奕奇 副教授
中国人民解放军第二军医大学长海医院

冯志杰 主任医师
河北医科大学第二医院消化内科

顾国利 副主任医师
中国人民解放军空军总医院普通外科

管世鹤 副教授
安徽医科大学第一附属医院检验科

郭永红 副主任医师
西安交通大学医学院第二附属医院传染病学

郝立强 副教授
上海长海医院普外二科

何松 教授
重庆医科大学附属第二医院

黄恒青 主任医师
福建省第二人民医院消化内科

姜波健 教授
上海交通大学医学院附属第三人民医院普通外科

李革 副教授
延边大学附属医院

李升平 教授
中山大学肿瘤医院肝胆科

李瑜元 教授
广州市第一人民医院内科

李正荣 副教授
南昌大学附属第一医院胃肠外科

刘宝林 教授
中国医科大学附属盛京医院

刘占举 教授
同济大学附属上海市第十人民医院

禄韶英 副教授
西安交通大学医学院第一附属医院普外科

门秀丽 教授
河北联合大学(原华北煤炭医学院)病理生理学教研室

彭宗根 副研究员
中国医学科学院北京协和医学院医药生物技术研究所

秦春宏 副主任医师
南华大学附属第二医院普外科

孙文兵 教授
首都医科大学附属北京朝阳医院肝胆胰脾外科

汤华 研究员
重庆医科大学感染性疾病分子生物学教育部重点实验室

许剑民 教授
复旦大学附属中山医院普外科

王道荣 主任医师
江苏省苏北人民医院胃肠外科

王文跃 主任医师
中日友好医院普通外科

袁建业 副研究员
上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

张明辉 副主任医师
河北医科大学第一医院肝病中心

张占卿 主任医师
上海市复旦大学公共卫生中心肝脏病学、传染病学

郑鹏远 教授
郑州大学第二附属医院消化科

世界华人消化杂志
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《**世界华人消化杂志**》入编《中文核心期刊要目总览》2011 年版（即第六版）之 **临床医学/特种医学类** 的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了 73 个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN 号、CN 号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被索量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web 下载量等 9 个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到 60 余种，统计到的文献数量共计 221177 余万篇次，涉及期刊 14400 余种。参加核心期刊评审的学科专家达 8200 多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出 1982 种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂

撰安

《中文核心期刊要目总览》2011 年版编委会

代章：

2012 年 1 月

百世登

Baishideng®

Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,
315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com



 © 2013 Baishideng. All rights reserved.

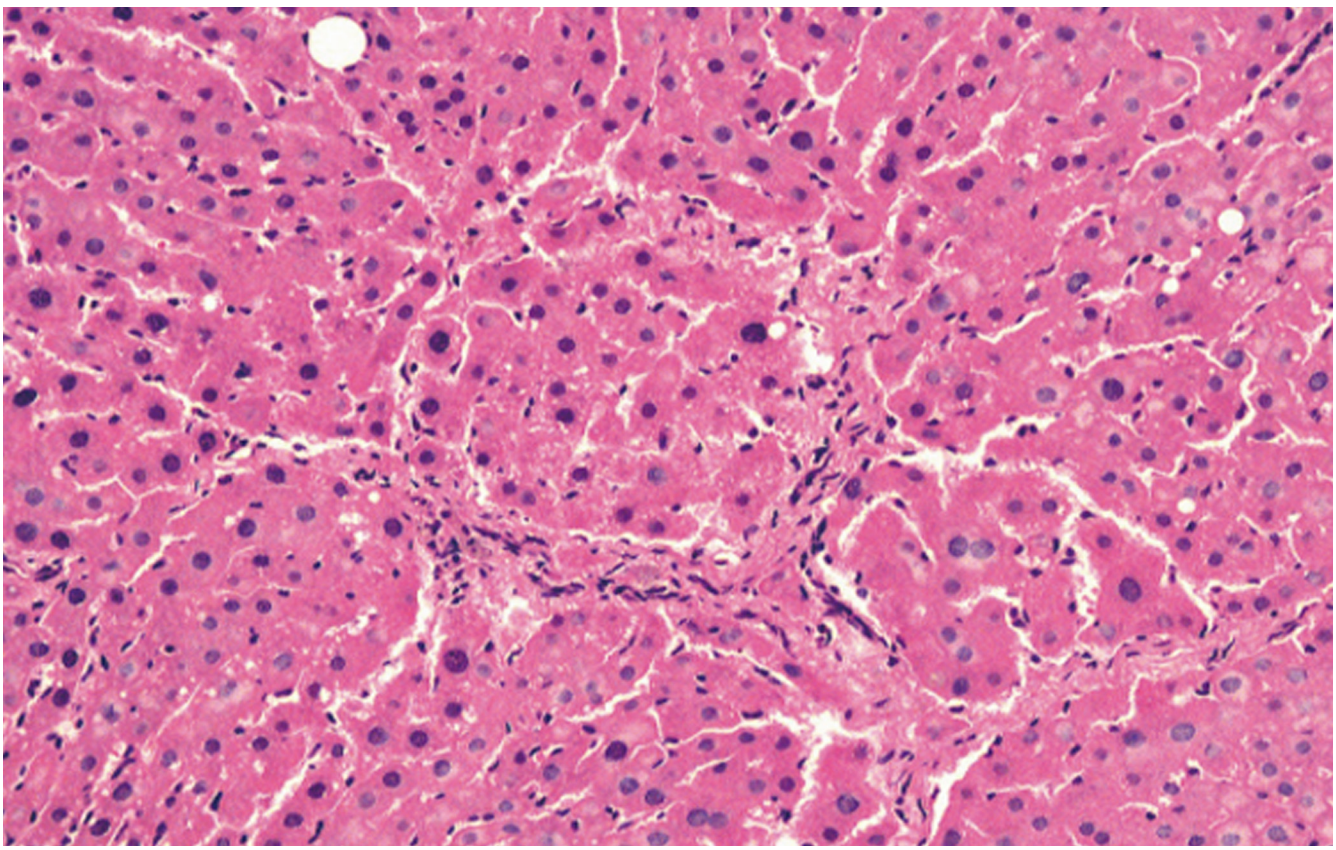
ISSN 1009-3079 (print)
ISSN 2219-2859 (online)

世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2013 年 4 月 18 日　第 21 卷　第 11 期　(Volume 21 Number 11)



11/2013

ISSN 1009-3079

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

世界华人消化杂志 www.wjgnet.com 二零一三年四月十八日 第二十一卷 第十一期

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

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

总顾问

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

名誉主编

潘伯荣教授

主编

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

编委

消化内科学

白爱平副教授
白岚教授
卜平教授
陈国忠主任医师
陈洪副教授
陈其奎教授
陈卫昌教授
陈贻胜教授
程斌教授
迟宝荣教授
崔立红教授
邓鑫教授
丁士刚教授
董蕾教授
杜雅菊主任医师
杜奕奇副教授
樊冬梅副主任医师
樊晓明教授
房静远教授
冯志杰主任医师
傅春彬主任医师
甘华田教授
高凌副教授
戈之铮教授
关玉盘教授
关晓辉主任医师
郭晓钟教授
郝建宇教授
郝丽萍副教授
何继满教授
何松教授
洪天配教授
黄培林教授
黄晓东主任医师
黄颖秋教授
黄缘教授
季国忠教授
江米足教授
姜春萌教授
姜慧卿教授
姜相君主任医师
金瑞教授
蓝宇教授
李淑德教授
李瑜元教授
李玉民教授
廖家智副主任医师
林志辉教授
刘冰熔教授
刘凤斌教授
刘改芳主任医师
刘海峰主任医师
刘海林主任医师
刘亮明副教授
陆伦根教授
马红主任医师
马欣主任医师
毛恩强教授
毛高平教授
孟庆华教授
缪应雷主任医师
倪润洲教授
欧希龙副教授
潘秀珍教授
潘阳林副教授
朴云峰教授
秦成勇教授
任粉玉教授
任建林教授
邵先玉教授
沈琳主任医师
沈薇教授
施瑞华教授
宋军副教授
唐世刚教授
田宇彬教授
度必光教授
宛新建副教授
王邦茂教授
王炳元教授
王承党教授
王江滨教授
王俊平教授
王蔚虹教授
王晓艳副教授
夏冰教授
夏时海副教授
徐灿霞教授
徐可树教授
杨建民教授
张国主任医师
姚树坤教授
张国梁主任医师
张军教授
张庆瑜教授
张小晋主任医师
张筱茵副教授
张志坚教授
郑培永教授
郑鹏远教授
郑素军副主任医师
郑勇教授
周国雄主任医师
周宇教授
邹晓平主任医师
诸琦教授
于珮主任医师

消化外科学

白雪副主任医师
白雪巍副主任医师
白玉作教授
蔡开琳副教授
蔡三军主任医师
曹杰主任医师
陈炳官教授
陈光教授
陈海龙教授
陈积圣教授
陈进宏副主任医师
陈凛教授
陈汝福教授
陈亚军主任医师
陈钟教授
程爱国教授
程树群副教授
崔云甫教授
戴朝六教授
戴冬秋教授
丁义涛教授
杜顺达副教授
房林教授
傅红副教授
傅华群教授
傅思源副教授
傅晓辉副教授
傅志仁主任医师
高毅主任医师
葛海燕教授
巩鹏副教授
谷俊朝主任医师
顾国利副主任医师
顾岩教授
韩天权教授
郝纯毅主任医师
郝立强副教授
何超教授
何向辉教授
何晓顺教授
何裕隆教授
胡安斌副教授
黄志勇教授
季加孚教授
荚卫东教授
姜波健教授
金山主任医师
康春博副主任医师
孔静副教授
黎乐群教授
李革副教授
李国威教授
李华副教授
李华山主任医师
李升平教授
李胜研究员
李涛副主任医师
李文岗教授
李小荣教授
李旭副教授
李永翔教授
李正荣副教授
李志霞教授
李宗芳教授
梁力建教授
刘宝林教授
刘超教授
刘宏鸣副教授
刘建教授
刘亮副主任医师
刘颖斌主任医师
卢军华教授
陆云飞教授
禄韶英副教授
吕凌副教授
吕云福教授
麻勇副研究员
齐清会教授
秦春宏副主任医师
秦华东教授
秦环龙教授
秦建民主任医师
邱伟华主任医师
仇毓东教授
崔清波副教授
单云峰副主任医师
沈柏用副教授
施宝民教授
施诚仁教授
施晓雷副主任医师
石毓君副研究员
宋新明教授
宋振顺教授
孙诚谊教授
孙文兵教授
孙星副教授
孙学英教授
邰升副教授
谭晓冬教授
汤朝晖副主任医师
汤绍涛教授
唐南洪教授

世界华人消化杂志®

编辑委员会

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

消化感染病学

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

消化中医药学

陈治水主任医师
杜群副研究员
扈晓宇主任医师
黄恒青主任医师
李军祥教授
李康副教授
李晓波教授
李勇副教授
李振华教授
刘成海研究员
刘绍能主任医师
鲁玉辉副教授
南极星教授
牛英才研究员
谭周进教授
王富春教授
王来友副教授
王笑民主任医师
邢建峰副教授
徐列明教授
许玲教授
徐庆教授
袁红霞研究员
张声生教授

消化肿瘤学

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

消化影像学

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

消化内镜及介入治疗学

郝俊鸣副主任医师
李家平教授
刘杰民副主任医师
茅爱武教授
孙明军教授
万军教授
吴沛宏教授
余日胜主任医师
袁友红副教授
张火俊副教授

消化中西医结合学

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

消化基础研究

曹洁副教授
曹鹏副研究员
陈敬贤教授
陈志龙教授
崔莲花副教授
段义农教授
樊红教授
高国全教授
高英堂研究员
管冬元副教授
郭长江研究员
郭俊明教授
何红伟副研究员
何敏教授
黄昆教授
黄文林教授
黄园教授
洪艳教授
李刚教授
李君文研究员
李孟森教授
李文贵副教授
李焱副研究员
李增山副教授
刘长征副教授
刘克辛教授
刘森副教授
宁钧宇副研究员
彭宗根副研究员
任超世研究员
任浩副教授
任晓峰副教授
邵华副主任药师
沈东炎副教授
沈涛副教授
斯坎德尔·白克力教授
台桂香教授
谭学瑞教授
汤静主管药师
滕旭副教授
田文静副教授
汪思应教授
王钦红教授
王书奎教授
魏继福研究员
文彬研究员
吴道澄教授
吴江锋副教授
吴军研究员
吴俊华副教授
吴志强副教授
夏敏教授
徐健副主任医师
徐宁志研究员
许文燮教授
杨晓明教授
阴赪宏研究员
郁卫东副研究员
喻荣彬教授
曾柱教授
张红教授
张淑坤副研究员
赵平教授
赵铁建教授
周南进研究员
周素芳教授
周晓武副主任医师
朱益民教授
竺亚斌研究员

消化病理学

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

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目　次 ●　2013 年 4 月 18 日　第 21 卷　第 11 期　(总第415期)

基础研究

951 益气复生方对胃癌原位移植瘤小鼠肠黏膜屏障的影响
邓皖利, 吕书勤, 任小娟, 王昕宇, 王巧琳, 陆明

957 阻断肾素-血管紧张素-醛固酮系统不同环节抗大鼠肝纤维化的实验研究
焦占江, 周杰, 崔忠林, 钱建平, 曾德华

963 表皮型脂肪酸结合蛋白在不同种属肝癌组织中的高表达及其临床意义
史俊林, 曹骥, 苏建家, 杨春, 欧超, 汪多平, 李瑗

临床研究

970 EGCG对阿霉素诱导的胃癌细胞MKN28衰老的影响
白洁, 马牧原, 蔡明, 许飞, 陈俊华, 帅晓明, 陶凯雄

978 胰泌素增强磁共振胰胆管造影对健康成人胰腺外分泌功能的影响
边云, 王莉, 陆建平, 武群, 陈士跃, 常乐, 谢丽娜

文献综述

984 肝脏原发性神经内分泌肿瘤的研究现状
李晓琼, 张华, 李健丁

990 不同来源间充质干细胞在肝病治疗中应用的研究进展
薛红利, 曾维政

996 组织因子途径抑制因子与肝脏疾病
禹硕, 冯志杰

研究快报

1002 隔药饼灸对功能性胃肠病肝郁脾虚模型大鼠胃肠激素及胃肠动力的影响
刘未艾, 郁保生, 常小荣, 刘密, 章海凤, 岳增辉

1008 DHA联合去甲斑蝥素对人胃癌细胞BGC-823增殖及凋亡的影响
王晨宇, 李猛, 王天阳, 闫启超, 康建省

临床经验

1014 食管癌术后谵妄症的发病率及其原因
续国武, 郑锴, 张鹏

1020 拉米夫定联合阿德福韦酯治疗慢性乙型肝炎合并急性/亚急性肝衰竭的疗效
张振英

1024 氩氦刀冷冻消融挽救治疗肝脏转移瘤46例
张炜浩, 李保国, 司同国, 于海鹏, 郭志

1029 肠易激综合征与精神心理因素的相关性
瞿勇, 李敏丽, 缪应雷

1035 嗜酸性粒细胞性胃肠炎的诊治分析67例
江勇, 卢向东, 张颖, 季英兰, 张志广

1040 遗传性非息肉性大肠癌生物标志物的血清miRNAs的筛选
田晰晰, 珠珠, 黄鉴, 任俊宇, 王跃, 张楠, 陈明清, 董坚

1046 腹腔镜超声影像技术引导机器人辅助腹部手术的临床应用
姜朋, 牟培源, 周宁新, 白媛媛

1050 肿瘤患者化疗时乙型肝炎病毒的再激活及核苷类药物的预防作用
刘瑶, 孔心涓, 姜英俊, 武军, 李新华, 田宇彬

附　　录	Ⅰ-Ⅴ　《世界华人消化杂志》投稿须知 Ⅰ　2013年国内国际会议预告
志　　谢	Ⅰ　志谢世界华人消化杂志编委
消　　息	956　2012年度《世界华人消化杂志》发文情况 969　中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 977　中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 983　《世界华人消化杂志》栏目设置 995　《世界华人消化杂志》正文要求 1001　《世界华人消化杂志》出版流程 1007　《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 1013　《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 1019　《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 1023　《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 1028　《世界华人消化杂志》参考文献要求 1039　《世界华人消化杂志》外文字符标准
封面故事	焦占江, 周杰, 崔忠林, 钱建平, 曾德华. 阻断肾素-血管紧张素-醛固酮系统不同环节抗大鼠肝纤维化的实验研究. 世界华人消化杂志 2013; 21(11): 957-962 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/957.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i11.957
本期责任人	编务 马帅; 送审编辑 鲁亚静, 闫晋利; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 黄新珍; 形式规范审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平　题写封面刊名
陈可冀　题写版权刊名

(旬刊)

创　刊 1993-01-15
改　刊 1998-01-25
出　版 2013-04-18
原刊名 新消化病学杂志

期刊名称
世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

主编
程英升, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心
党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科
江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科
刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科
刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科
吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科
马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科
王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科
姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心
张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部
田滢, 主任
《世界华人消化杂志》编辑部
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室
电话: 010-59080035
传真: 010-85381893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

出版
百世登出版集团有限公司
Baishideng Publishing Group Co., Limited
Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

制作
北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室
电话: 010-85381892
传真: 010-85381893

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

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

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

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

定价
每期68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归Baishideng所有

World Chinese Journal of Digestology

April 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 11

BASIC RESEARCH

951 Effect of Yi-Qi-Fu-Sheng Recipe on mucosal barrier in an orthotopic transplant mouse model of gastric cancer
Deng WL, Lv SQ, Ren XJ, Wang XY, Wang QL, Lu M

957 Preventive effect of blockage of renin-angiptensin-aldosterone system at different levels against hepatic fibrosis in rats
Jiao ZJ, Zhou J, Cui ZL, Qian JP, Zeng DH

963 Clinical significance of up-regulated expression of epidermal fatty acid binding protein in hepatocellular carcinoma tissues from different species
Shi JL, Cao J, Su JJ, Yang C, Ou C, Wang DP, Li Y

CLINICAL RESEARCH

970 Treatment with EGCG promotes doxorubicin-induced cell senescence in gastric cancer cell line MKN28
Bai J, Ma MY, Cai M, Xu F, Chen JH, Shuai XM, Tao KX

978 Quantitative analysis of pancreatic exocrine function in healthy adults using secretin-enhanced MRCP
Bian Y, Wang L, Lu JP, Wu Q, Chen SY, Chen L, Xie LN

REVIEW

984 Advances in research of primary hepatic neuroendocrine tumors
Li XQ, Zhang H, Li JD

990 Advances in the use of mesenchymal stem cells derived from different origins for the treatment of liver diseases
Xue HL, Zeng WZ

996 Tissue factor pathway inhibitor and liver diseases
Yu S, Feng ZJ

RAPID COMMUNICATION

1002 Influence of herbal-cake-separated-moxibustion on gastrointestinal hormones and gastrointestinal motility in rats with functional gastrointestinal disorders and syndrome of liver stagnation and spleen deficiency
Liu WA, Chang XR, Liu M, Zhang HF, Yue ZH

1008 DHA combined with norcantharidin inhibits cell growth and promotes apoptosis in human gastric cancer cell line BGC-823
Wang CY, Li M, Wang TY, Yan QC, Kang JS

CLINICAL PRACTICE

1014 Incidence and causes of postoperative delirium in patients with esophageal cancer
Xu GW, Zheng K, Zhang P

1020 Efficacy of lamivudine combined with adefovir dipivoxil in management of chronic hepatitis B with acute or sub-acute liver failure
Zhang ZY

1024 Cryoablation for salvage therapy of liver metastases: An analysis of 46 cases
Zhang WH, Li BG, Si TG, Yu HP, Guo Z

1029 Correlation between psychological factors and irritable bowel syndrome
Qu Y, Li ML, Miao YL

1035 Diagnosis and treatment of eosinophilic gastroenteritis: An analysis of 67 cases
Jiang Y, Lu XD, Zhang Y, Ji YL, Zhang ZG

1040 Serum microRNAs as promising novel biomarkers for hereditary nonpolyposis colorectal cancer
Tian XX, Zhu Z, Huang J, Ren JY, Wang Y, Zhang N, Chen MQ, Dong J

1046 Clinical effects of laparoscopic ultrasound imaging in robot-assisted abdominal surgery
Jiang P, Mu PY, Zhou NX, Bai YY

1050 Reactivation of hepatitis B virus and antiviral treatment in cancer patients receiving chemotherapy
Liu Y, Kong XJ, Jiang YJ, Wu J, Li XH, Tian ZB

APPENDIX	I – V Instructions to authors of *World Chinese Journal of Digestology* I Meeting events calendar in 2013
ACKNOWLEDGMENT	I Acknowledgments to reviewers of *World Chinese Journal of Digestology*
COVER	*Jiao ZJ, Zhou J, Cui ZL, Qian JP, Zeng DH.* Preventive effect of blockage of renin-angiptensin-aldosterone system at different levels against hepatic fibrosis in rats. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(11): 957-962 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/957.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i11.957
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: *Shuai Ma* Review Editor: *Ya-Jing Lu, **Jin-Li Yan*** Electronic Page Editor: *Ya-Jing Lu* English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Editor-in-Charge: *Xin-Zhen Huang* Proof Editor: *Ying Tian* Layout Editor: *Lian-Sheng Ma*

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

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date April 18, 2013

NAME OF JOURNAL
World Chinese Journal of Digestology

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

EDITOR-IN-CHIEF
Ying-Sheng Cheng, Professor, Medical Imaging Center, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China
Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China
Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China
Lian-Xin Liu, Professor, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China
Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China
Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hang-zhou 310006, Zhejiang Province, China
Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China
Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China
Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China
Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

EDITORIAL OFFICE
Ying Tian, Director
World Chinese Journal of Digestology
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-59080035
Fax: +86-10-85381893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

PUBLISHER
Baishideng Publishing Group Co., Limited
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,
315-321 Lockhart Road, Wan Chai,
Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188
E-mail: bpg@baishideng.com
http://www.wjgnet.com

PRODUCTION CENTER
Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-85381892
Fax: +86-10-85381893

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

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

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

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

世界华人消化杂志 2013年4月18日; 21(11): 951-956
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

益气复生方对胃癌原位移植瘤小鼠肠黏膜屏障的影响

邓皖利, 吕书勤, 任小娟, 王昕宇, 王巧琳, 陆 明

邓皖利, 吕书勤, 任小娟, 王昕宇, 王巧琳, 陆明, 新疆维吾尔自治区中医医院肿瘤一科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830002
邓皖利, 博士, 主任医师, 主要从事肿瘤的中西医结合临床与基础研究.
新疆名医名方与特色方剂学实验室开放基金资助项目, No. XJDX0910-2010-04
新疆维吾尔自治区自然科学面上基金资助项目, No. 2011211A097
作者贡献分布: 此课题由邓皖利、吕书勤及陆明共同设计; 研究过程由任小娟、王昕宇及王巧琳操作完成; 数据分析与论文写作由邓皖利完成.
通讯作者: 陆明, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 830002, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市黄河路116号, 自治区中医医院肿瘤一科. dengwanwan7723@sina.com
收稿日期: 2012-01-28 修回日期: 2013-01-31
接受日期: 2013-03-29 在线出版日期: 2013-04-18

Effect of Yi-Qi-Fu-Sheng Recipe on mucosal barrier in an orthotopic transplant mouse model of gastric cancer

Wan-Li Deng, Shu-Qin Lv, Xiao-Juan Ren, Xin-Yu Wang, Qiao-Lin Wang, Ming Lu

Wan-Li Deng, Shu-Qin Lv, Xiao-Juan Ren, Xin-Yu Wang, Qiao-Lin Wang, Ming Lu, Department of Oncology (Division I), Traditional Chinese Medical Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi 830002, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Supported by: the Proved Recipe of Famous Doctor and Specialty Prescriptions Laboratory Foundation of Xinjiang, No. XJDX0910-2010-04; the National Natural Science Foundation of Xinjiang, No. 2011211A097
Correspondence to: Ming Lu, Professor, Chief Physician, Department of Oncology (Division I), Traditional Chinese Medical Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi 830002, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. dengwanwan7723@sina.com
Received: 2012-01-28 Revised: 2013-01-31
Accepted: 2013-03-29 Published online: 2013-04-18

Abstract

AIM: To investigate the effects of Yi-Qi-Fu-Sheng Recipe (YQFS) on tumor growth and on intestinal mucosal barrier function in mice with experimental gastric cancer.

METHODS: An orthotopic transplant mouse model of gastric cancer was created by injecting mouse MFC cells. Mice were randomly divided into five groups: NS control group, model group, 5-Fu group, YQFS group and combination therapy group. After intragastric administration of drugs for 14 d, tumor growth and the reduced rate of tumor growth were evaluated, the changes in D-lactic acid, diamine oxidase (DAO), endotoxin and IgG were evaluated by ELISA, and the expression of ZO-1 was detected by gelatin zymography.

RESULTS: Compared to the model group, tumor weight in the YQFS group and combination therapy group were significantly decreased (2.29 g ± 0.14 g *vs* 1.47 g ± 0.10 g, 1.24 g ± 0.11 g, both $P < 0.05$). Compared to the model group, D-lactic acid, DAO, endotoxin and IgG were decreased after treatment with YQFS (all $P < 0.05$). Immunohistochemistry analysis revealed that the levels of ZO-1 in the YQFS group, 5-Fu group and combination therapy group were significantly increased compared to the model group (all $P < 0.05$).

CONCLUSION: YQFS significantly inhibits tumor growth and protects the intestinal mucosal barrier function in mouse with gastric cancer possibly via mechanisms associated with altering the expression of ZO-1.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; Mucosal barrier; Zonula occludens-1; Yi-Qi-Fu-Sheng Recioe

Deng WL, Lv SQ, Ren XJ, Wang XY, Wang QL, Lu M. Effect of Yi-Qi-Fu-Sheng Recipe on mucosal barrier in an orthotopic transplant mouse model of gastric cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(11): 951-956 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/951.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i11.951

摘要

目的: 探讨益气复生方对原位移植荷胃癌小鼠的抑瘤作用及其对免疫功能的影响.

方法: 建立MFC胃癌原位移植瘤小鼠模型, 随机分为5组: 空白对照组、模型组、5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-Fu)组、益气复生方组及益气复生方联合5-Fu组, 每组10只. 给药14 d后处死, 测量各组瘤体质量并计算每组小鼠的抑瘤率.

■背景资料
放化疗是肿瘤术后的主要辅助治疗手段, 但化疗药物在抑杀癌细胞的同时, 也损害机体的正常反应, 破坏机体内环境平衡, 导致胃肠道黏膜上皮细胞充血水肿, 引起肠道屏障功能障碍. 中药益气复生方具有明显减轻化疗引起的消化系反应的作用, 但作用机尚不明确.

■同行评议者
杜雅菊, 教授, 哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科

采用ELISA法等方法检测荷胃癌小鼠D-乳酸、二胺氧化酶、内毒素、IgG的变化; 进行肠内黏膜组织的病理分析; 免疫组织化学法检测益气复生方对荷瘤小鼠紧密连接蛋白-1(zonula occluden-1, ZO-1)表达的影响.

结果: 模型组小鼠胃癌移植瘤质量为2.29 g±0.14 g, 益气复生方干预后, 瘤体质量下降为1.47 g±0.10 g, 益气复生方联合5-Fu组则下降至1.24 g±0.11 g(P<0.05); 肠黏膜病理分析结果显示, 益气复生方治疗后, 肠黏膜绒毛较模型组恢复显著, 细胞坏死减轻; ELISA结果显示小鼠外周血中D-乳酸、二胺氧化酶、内毒素、IgG含量均比模型组降低(P<0.05); 免疫组织化学结果显示, 益气复生方治疗后, 与模型组的30%相比, 5-Fu组、益气复生方组以及益气复生方联合5-Fu组的ZO-1蛋白表达水平明显上调(P<0.05).

结论: 益气复生方可以增强机体免疫功能, 具有明确的抑瘤作用, 其抗肠癌作用与抑制ZO-1的表达有关.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 胃癌; 肠黏膜屏障; ZO-1; 益气复生方

核心提示: 本研究首次发现益气复生方在抗肿瘤的同时还具有保护肠黏膜屏障功能的作用, 其作用机制可能与抑制紧密连接蛋白-1(zonula occluden-1)表达、改善小鼠肠黏膜通透性有关.

邓皖利, 吕书勤, 任小娟, 王昕宇, 王巧琳, 陆明. 益气复生方对胃癌原位移植瘤小鼠肠黏膜屏障的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(11): 951-956 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/951.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i11.951

■相关报道
本课题组前期临床研究已经证实益气复生方具有明显减轻化疗引起的消化系反应的作用, 同时卢璐等报道, 参苓白术散加味大黄通过促进NIH小鼠小肠Lp-PLA2、LZM的分泌化疗引起的消化系反应, 发挥其保护肠黏膜屏障功能的作用.

0 引言

胃癌是一种常见的恶性肿瘤, 在我国, 胃癌的发病率居第2位, 但死亡率则位居第1位[1,2], 严重危害人类健康. 多数胃癌发现时已经是中晚期, 对于手术后及失去手术机会或转移性胃癌患者均应该应用化疗、放疗等手段综合治疗, 但放化疗同时, 也损害机体的正常反应, 破坏机体内环境平衡, 致使本已失衡的机体失调更加恶化, 并易致胃肠道黏膜上皮细胞充血水肿, 导致肠道屏障功能障碍, 出现恶心、呕吐、腹泻、便秘等胃肠功能失调的临床症状[3-5]. 长期的临床实践证明[6-8], 中医药在肠道黏膜屏障功能方面具有明显的保护作用, 中药保护肠屏障功能的研究已取得了很大进展, 其疗效和优势也逐步得到肯定. 益气复生方是本院治疗肿瘤的多年临床经验方, 临床用于改善胃肠道反应效果明显. 本实验体内构建原位移植荷胃癌小鼠模型, 观察益气复生方原位移植小鼠胃癌的抑瘤作用及其对小鼠免疫功能的影响, 以探讨益气复生方的抗胃癌作用, 为其在临床应用提供实验依据.

1 材料和方法

1.1 材料 小鼠MFC胃癌细胞购自上海细胞研究所. 清洁级昆明小鼠50只, 体质量20 g±2 g, 由新疆医科大学动物实验中心提供. 甲醇、无水乙醇、0.6%戊巴比妥钠购自天津市巴斯夫化工有限公司; CKX41/U-RFLT50荧光倒置显微镜购自日本OLYMPUS; 5804R高速冷冻离心机购自德国Eppendorf公司; Biophotometer生物分光光度计购自Bio-Rad公司; AnnexinV/FIFC Kit购自美国BD Biosciences公司; PI和RNase购自美国BD Biosciences公司用; ELISA试剂盒购自日本IBL公司; SABC免疫组织化学试剂盒购自武汉博士德生物公司; 紧密连接蛋白-1(zonula occluden-1, ZO-1)抗体购自美国CST公司.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: 小鼠MFC胃癌细胞于含10%小牛血清的RPMI 1640培养液(含青霉素、链霉素各100 U/mL中, 37 ℃、5%CO_2、饱和湿度培养箱中常规培养.

1.2.2 益气复生方的制备: 益气复生方由党参20 g、黄芪20 g、茯苓20 g、炒白术15 g、肉豆蔻15 g、八月札15 g等药物组成, 以上药物均购自新疆维吾尔自治区中医院中药房. 按比例取上述药材, 加8倍量的水, 浸渍1 h, 武火煮沸后文火煎煮0.5 h, 滤过, 滤渣再加6倍量的水煎煮0.5 h, 滤过. 滤液合并浓缩至每毫升药液中含1 g生药. 4 ℃保存备用.

1.2.3 MFC胃癌原位移植瘤小鼠模型的制备与给药: 选取昆明种小鼠50只, 雌雄各半, 随机分成5组, 每组10只. 实验小鼠术前12 h禁食, 4 h禁水. 层流室无菌条件下, 0.6%戊巴比妥钠40 mg/kg, 腹腔注射麻醉. 切开腹壁组织, 充分暴露胃体, 取无菌传代MFC胃癌细胞悬液0.2 mL, 其浓度为1×10^7/mL, 于胃大弯浆膜下缓慢进针0.5-0.7 cm, 将细胞悬液全部注入浆膜层, 可见形成透亮小泡状隆起后, 缓慢退针, 防止细胞悬液自针孔漏出, 逐层结节缝合腹膜及腹壁, 关腹. 术后各组小鼠分笼, 庆大霉素蒸馏水混合液及适量蛋黄与饲料混合喂养. 逐日观察. 种植后7-9 d, 可于

表 1 益气复生方对荷瘤小鼠的抑瘤作用

分组	剂量[C/(mg•kg)]	瘤质量(m/g)	抑瘤率(%)
模型组		2.29 ± 0.14	–
益气复生方组	40 000	1.47 ± 0.10[a]	35.80
5-Fu组	20	1.37 ± 0.16[a]	39.80
益气复生方+5-Fu组	40 000 ± 20	1.24 ± 0.11[a]	45.80

[a]P<0.05 *vs* 模型组. 5-Fu: 5-氟尿嘧啶.

■应用要点
本研究有助于减轻化疗引起的消化系症状, 改善肠道屏障功能障碍, 并为肿瘤的诊治提供更充分的理论依据.

左上腹部触及不规则肿物, 表面凹凸不平, 质硬, 界限尚清. 经病理证实为小鼠胃低分化胃癌, 可认为肿瘤种植成功.

各组给予对应治疗, 中药组(益气复生方组)给予中药灌胃, 按照40 g/(kg•d), 1次/d, 0.5 mL/次, 共14 d. 西药组(5-Fu组): 采用5-Fu, 按照20 mg/kg剂量腹腔注射0.2 mL, 1次/d, 连续5 d. 中药+西药组(益气复生方组+5-Fu): 给予中药灌胃, 按照规定剂量, 1次/d, 0.5 mL/L, 共14 d, 同时给予5-Fu, 按照20 mg/kg剂量腹腔注射0.2 mL, 1次/d, 连续5 d. 处死小鼠后取出瘤体测量各组瘤体的质量, 计算各组小鼠肿瘤生长抑制率. 抑瘤率: (模型组平均瘤质量-实验组平均瘤质量)/模型组平均瘤质量×100%.

1.2.4 酶联免疫吸附法(ELISA)检测益气复生方对各组小鼠外周血中D-乳酸、二胺氧化酶、内毒素、IgG的影响: 各组小鼠予相应治疗14 d后处死, 经鼠眼眶收集血液0.4-0.9 mL于抗凝管, 室温自然凝固10-20 min, 离心20 min左右(3 000 r/min), 仔细收集上清, 按ELISA试剂盒说明书检测血清中D-乳酸、二胺氧化酶、内毒素、IgG水平. 显色后用酶标仪读A值, 再以建立的标准曲线换算出检测指标的真实含量.

1.2.5 肠黏膜组织形态学分析: 取各组相同位置的肠管生理盐水冲洗后, 10%甲醛液固定, 石蜡包埋, 切片厚度约4 μm, HE染色, 光镜下观察病理学改变, 图像分析仪进行形态定量检测, 分别测定3张非连续切片各10个绒毛的绒毛高度, 绒毛面积, 取其均值表示.

1.2.6 免疫组织化学(EnVision)法检测小鼠肠黏膜ZO-1的表达: 取各组小鼠胃肠黏膜在140 g/L甲醛固定液中固定4 h. 常规洗涤、各级乙醇梯度脱水; 二甲苯透明; 浸蜡、包埋、切片. 常规4 μm石蜡切片, 58 ℃烤24 h, 常规二甲苯脱蜡至水; 微波抗原修复, 室温自然冷却; 羊血清封闭; 加入一抗; 滴加EnVision二抗(HRP-R), 显色; 苏木素复染, 常规树脂封片; 镜下观察, 阳性产物为棕黄色或棕褐色, 背景为蓝紫色. 每批染色均用已知的阳性切片做阳性对照, 用PBS代替一抗做阴性对照.

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件包处理数据. 各组数据采用mean±SD表示, 两独立样本均数比较, 采用independent-samples t test, 多样本均数比较采用单因素方差分析, 均数间两两比较采用SNK-q检验(Student-Newman-Keuls法), 求出组间差异. P<0.05为有统计学意义, P<0.01为有显著性意义.

2 结果

2.1 益气复生方对MFC胃癌原位移植瘤小鼠模型的影响 与模型组相比, 益气复生方组、5-Fu组以及益气复生方联合5-Fu组小鼠胃癌原位移植瘤体积明显减小(P<0.01). 但益气复生方联合5-Fu组与5-Fu组比较, 差异无统计学意义(P>0.05, 表1).

2.2 益气复生方对小鼠血清D-乳酸、二胺氧化酶、内毒素、IgG含量的影响 ELISA结果发现, 与空白组相比, 模型组小鼠血清D-乳酸、二胺氧化酶、内毒素、IgG的检测值有极显著差异(P<0.01); 与模型组相比, 中药组、西药组、联合组有统计学意义(P<0.05); 与模型组相比, 中药组、西药组、联合组3组中联合组更接近模型组(表2).

2.3 胃癌组织的病理学改变 光镜下见空白组肠黏膜绒毛结构正常, 排列整齐. 模型组的肠黏膜绒毛完整性被破坏, 部分绒毛坏死脱落、稀疏、变短, 排列紊乱. 中药组、西药组、联合组肠黏膜绒毛较模型组相比明显恢复, 肠黏膜绒毛尚完整(图1).

2.4 益气复生方对ZO-1蛋白的影响 免疫组织化学法检测结果显示, 与模型组的30%相比, 5-Fu组、益气复生方组以及益气复生方联合5-Fu组

■同行评价
本文发现益气复生方在抗肿瘤的同时还具有保护肠黏膜屏障功能的作用, 有助于减轻化疗引起的消化系症状, 改善肠道屏障功能障碍, 其机制可能与抑制ZO-1表达、改善小鼠肠黏膜通透性有关, 为肿瘤的诊治提供更充分的理论依据.

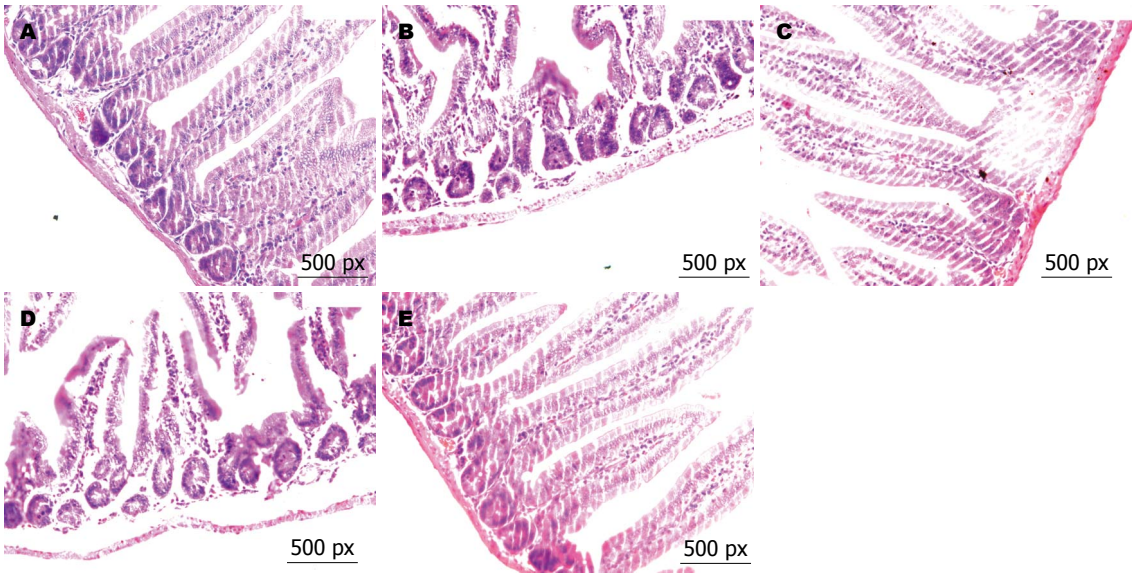


图 1 光镜下小鼠肠组织形态学的改变(× 500). A: 空白对照组; B: 模型组; C: 益气复生方组; D: 5−氟尿嘧啶组; E: 益气复生方+5−氟尿嘧啶组.

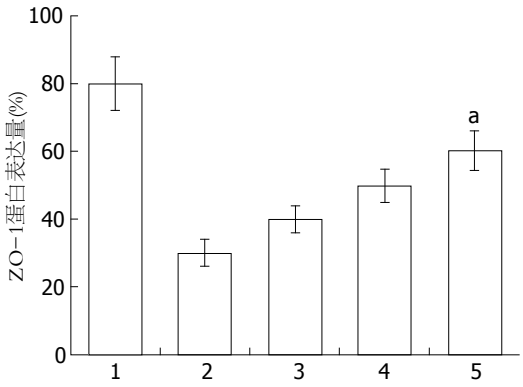


图 2 益气复生方对对ZO−1蛋白的影响(n = 10, mean ± SD). 1: 空白对照组; 2: 模型组; 3: 5−氟尿嘧啶组; 4: 益气复方组; 5: 益气复方+5−氟尿嘧啶组. ^{a}P<0.05 *vs* 模型组. ZO−1: 紧密连接蛋白1.

的ZO-1蛋白表达水平明显上调, 其中益气复生方联合5-Fu组与模型组相比, 差异有统计意义(P<0.05, 图2).

3 讨论

胃癌是世界范围内最常见的恶性肿瘤之一[9], 由于胃癌早期缺乏特异性的临床症状, 多数胃癌发现时已经是中晚期, 部分病例难以根治性切除, 对于手术后及失去手术机会或转移性胃癌患者均应该应用化疗、放疗等手段综合治疗, 以提高患者的生存质量, 降低复发率, 延长患者生存期, 提高治愈率[10-12]. 但放化疗在抑杀癌细胞的同时, 也损害机体的正常反应, 破坏机体内环境平衡, 致使本已失衡的机体失调更加恶化, 并易致胃肠道黏膜上皮细胞充血水肿[13], 导致肠道屏障功能障碍, 出现恶心、呕吐、腹泻、便秘等胃肠功能失调的临床症状[14].

D-乳酸是肠道固有菌群发酵后的代谢终产物, 哺乳动物机体的各种组织均不产生D-乳酸, 也没有快速代谢分解D-乳酸的酶系统, 正常情况下不能穿越肠屏障, 因此, 血浆中的D-乳酸基本来源于肠道, 可作为肠屏障损伤及菌群失调的评价指标[15]. 二胺氧化酶(diamineoxidase, DAO)是具有高度活性的细胞内酶, 其活性与绒毛高度及肠黏膜细胞的核酸和蛋白合成密切相关[16]. 小肠黏膜屏障功能衰竭时, 肠黏膜细胞脱落入肠腔, DAO进入肠细胞间隙淋巴管和血流, 使血DAO升高[17-19]. 因此, 血DAO活性可反映肠道损伤和修复情况. 临床检测发现[20], 肠黏膜损伤的患者中D-乳酸和DAO的升高往往伴有内毒素的增加, 其原因主要是肠道屏障功能受损时, 菌群失调, 小肠内毒素则会过度表. 本实验结果显示模型组小鼠血清D-乳酸、DAO、内毒素水平较空白对照组均明显升高(P<0.01), 提示构建MFC胃癌原位移植瘤模型后, 小鼠肠黏膜屏障功能衰竭, 肠黏膜通透性增加, 大量肠黏膜细胞坏死、脱落.

近年来, 中医药在肠道黏膜屏障功能方面具有明显的保护作用[21-23]. 中药保护肠屏障功能的研究已取得了很大进展, 其疗效和优势也逐步得到肯定. 因此我们根据中医“顾护胃气”的理论, 以临床疗效为基础, 选择我院经验方益气复

表 2 益气复生方对小鼠血清D-乳酸、二胺氧化酶、内毒素、IgG含量的影响 (n = 10, mean ± SD)

	D-乳酸	二胺氧化酶	内毒素	IgG
空白对照组	729.85 ± 37.63	9.38 ± 0.99	0.211 ± 0.03	3.62 ± 0.38
模型组	938.03 ± 196.28[b]	29.37 ± 9.24[b]	0.48 ± 0.17[b]	5.64 ± 1.41[b]
益气复生方组	839.90 ± 158.86[c]	11.11 ± 3.25[d]	0.35 ± 0.13[d]	3.98 ± 0.46[d]
5-Fu组	805.45 ± 50.08[c]	14.92 ± 7.28[d]	0.30 ± 0.09[d]	3.81 ± 0.63[c]
益气复生方+5-Fu组	805.40 ± 133.88[c]	9.78 ± 2.20[d]	0.26 ± 0.06[d]	4.52 ± 0.73[c]

[b]P<0.01 *vs* 空白对照组; [c]P<0.05, [d]P<0.01 *vs* 模型组. 5-Fu: 5-氟尿嘧啶.

生方为研究对象, 探讨其保护肠道黏膜屏障机制. 益气复生方由生党参、黄芪、苦豆子、八月札等组成, 具有“益胃气”、“调中焦”之功效. 前期结果显示发现, 该方以党参、黄芪大补元气、健脾养胃, 白术、豆蔻等健脾燥湿醒脾开胃, 与补益药合用以防滋腻, 共奏健脾益气, 复生中气之效, 从而实现了带瘤生存, 提高胃癌患者的生存质量和远期疗效.

为了进一步探讨“益气复生方”对胃癌的治疗机制, 我们从肠道屏障功能角度入手, 通过建立小鼠MFC胃癌原位移植瘤模型, 给予化疗药5-Fu, 中药益气复生方以及益气复生方联合5-Fu进行干预, 结果发现益气复生方作用荷瘤小鼠后, 抑瘤率达35.80%, 高于5-Fu组(P>0.05), 与对照组相比, 差异有统计学意义(P<0.05). 同时病理切片结果证实, 治疗组(5-Fu组、益气复生方组、益气复生方联合5-Fu组)小鼠的肠黏膜炎症病理损伤程度较模型组有显著的减轻, 其中益气复生方联合5-Fu组的肠黏膜损伤程度最小, 接近空白对照组. 提示益气复生方可以在化疗药物造成肠黏膜损伤的基础上对肠黏膜屏障进行保护和修复. 这与张仁岭报道的四君子汤加大黄能降低脓毒症大鼠肠黏膜通透性, 防止肠道细菌易位, 保护肠黏膜屏障功能的实验结果相一致[24]. 本实验进一步研究发现, 经益气复生方治疗后, 小鼠外周血中D-乳酸和DAO含量比模型组明显降低(P<0.05), 内毒素和IgG两项指标呈现基本一致的变化趋势. 说明益气复生方能修复胃癌小鼠受损肠黏膜, 改善肠黏膜通透性, 保护肠道屏障功能. 结果与益气活血祛风中药保护肠道屏障功能的作用机制相同, 提出益气活血祛风中药是通过下调大鼠血清IgE含量, 来改善致敏大鼠肠黏膜通透性, 保护肠道屏障功能的[25].

ZO-1是紧密连接相关的蛋白的成员之一[26,27]. 研究表明, ZO-1作为连接跨膜蛋白和细胞骨架蛋白的桥梁蛋白, 是维持肠上皮细胞黏膜屏障完整性的重要结构, 因此ZO-1的缺失是肠上皮细胞黏膜屏障受损的标志之一[28-30]. 本研究发现ZO-1在胃癌小鼠肠组织中表达增强, 益气复生方治疗后, 肠黏膜组织中ZO-1表达水平较模型组明显升高, 说明益气复生方可以增加肠黏膜的ZO-1含量, 提示益气复生方可能是通过增加ZO-1的表达水平来改善胃癌小鼠肠黏膜通透性, 保护肠道屏障功能的.

总之, 本研究在构建MFC胃癌原位移植瘤小鼠模型的基础上, 采用具有“益胃气”之功效的益气复生方进行干预, 结果发现益气复生方可以抑制MFC小鼠胃癌原位移植瘤的生长, 降低小鼠血清D-乳酸、二胺氧化酶、内毒素、IgG的表达, 其机制可能与抑制ZO-1表达、改善小鼠肠黏膜通透性, 保护肠道屏障功能有关. 因此, 明确益气复生方在人胃癌中的作用及具体机制, 将有助于我们更深入认识益气复生方的功效, 也为临床寻找有效的治疗靶点提供参考.

4 参考文献

1 Cervantes A, Roda D, Tarazona N, Roselló S, Pérez-Fidalgo JA. Current questions for the treatment of advanced gastric cancer. *Cancer Treat Rev* 2013; 39: 60-67 [PMID: 23102520 DOI: 10.1016/j.ctrv.2012.09.007]
2 Kanat O, O'Neil BH. Metastatic gastric cancer treatment: a little slow but worthy progress. *Med Oncol* 2013; 30: 464 [PMID: 23335104 DOI: 10.1007/s12032-013-0464-4]
3 所剑, 王大广, 刘泽锋. 早期胃癌诊断和治疗. 中国实用外科杂志 2011; 31: 717-719
4 李爱琳, 王振宁. 胃癌放射治疗进展. 中国实用外科杂志 2011; 31: 723-725
5 张捷, 张咏梅, 于韦韦. XELOX方案治疗晚期胃癌104例. 当代医学 2011; 17: 138-139
6 刘小南, 霍婷婷, 王为忠, 管文贤. 参附注射液对大鼠胰腺移植受体小肠肠黏膜屏障的保护作用. 消化外科 2005; 4: 341-345
7 高允海. 丹参对急性胰腺炎大鼠肠黏膜屏障功能和免疫功能的影响. 中国医药指南 2012; 10: 516-518

8 张仁岭, 张胜华, 冯寿全. 四君子汤加味对胃肠道手术后肠粘膜屏障功能的作用. 中国中西医结合外科杂志 2006; 12: 6-9
9 Corso G, Seruca R, Roviello F. Gastric cancer carcinogenesis and tumor progression. *Ann Ital Chir* 2012; 83: 172-176 [PMID: 22595727]
10 Blum MA, Takashi T, Suzuki A, Ajani JA. Management of localized gastric cancer. *J Surg Oncol* 2013; 107: 265-270 [PMID: 23303654 DOI: 10.1002/jso.23183]
11 Higashi D, Seki K, Ishibashi Y, Egawa Y, Koga M, Sasaki T, Hirano K, Mikami K, Futami K, Maekawa T, Sudo M. The effect of lentinan combination therapy for unresectable advanced gastric cancer. *Anticancer Res* 2012; 32: 2365-2368 [PMID: 22641676]
12 Lim JS, Jin SH, Kim SB, Lee JI. Effect of bisphosphonates on bone mineral density and fracture prevention in gastric cancer patients after gastrectomy. *J Clin Gastroenterol* 2012; 46: 669-674 [PMID: 22504799 DOI: 10.1097/MCG.0b013e31824f1af4]
13 陈海龙, 冯立民, 关凤林. 阳明腑实证患者肠粘膜屏障功能的改变及复方大承气汤干预作用的临床观察. 中医杂志 2003; 44: 672-673
14 钱锋, 余佩武, 李前伟. 生长激素对肠粘膜屏障保护作用的临床研究. 第三军医大学学报 2002; 24: 865-867
15 曹霞. 肠黏膜屏障功能异常与炎症性肠病. 胃肠病学 2011; 16: 379-381
16 Naila A, Flint S, Fletcher GC, Bremer PJ, Meerdink G, Morton RH. Prediction of the amount and rate of histamine degradation by diamine oxidase (DAO). *Food Chem* 2012; 135: 2650-2660 [PMID: 22980854 DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.07.022]
17 黎君友, 吕艺. 二胺氧化酶在创伤后肠道损伤中变化及意义. 中国危重病急救医学 2000; 8: 482-484
18 Kamei H, Hachisuka T, Nakao M, Takagi K. Quick recovery of serum diamine oxidase activity in patients undergoing total gastrectomy by oral enteral nutrition. *Am J Surg* 2005; 189: 38-43 [PMID: 15701488 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2004.03.015]
19 Namikawa T, Fukudome I, Kitagawa H, Okabayashi T, Kobayashi M, Hanazaki K. Plasma diamine oxidase activity is a useful biomarker for evaluating gastrointestinal tract toxicities during chemotherapy with oral fluorouracil anti-cancer drugs in patients with gastric cancer. *Oncology* 2012; 82: 147-152 [PMID: 22433290 DOI: 10.1159/000336799]
20 阮鹏, 张全荣, 龚作炯, 杨丽华. 肝炎肝硬化患者血浆D-乳酸、二胺氧化酶和内毒素的检测及其临床意义. 临床内科杂志 2004; 21: 93-95
21 鲁召欣, 高翠翠, 张明, 张众慧, 姜志明, 杨君, 徐拥庆, 李涛. 解建益气通腑逐瘀方灌肠疗法对脓毒症患者肠道黏膜屏障功能的影响. 世界华人消化杂志 2009; 17: 2530-2533
22 蔡治方, 兑丹华, 王俊, 李继志. 清胰Ⅱ号方对重症急性胰腺炎大鼠肠黏膜屏障功能的影响. 中国中西医结合杂志 2012; 32: 490-493
23 邹积骏, 张家衡, 徐瑶, 罗琼. 枳术汤加味对大鼠肠粘膜屏障功能保护作用的研究. 浙江中医杂志 2009; 44: 568-569
24 张仁岭, 张胜华, 冯寿全. 四君子汤加大黄对脓毒症大鼠肠黏膜屏障功能的保护作用. 中国中西医结合消化杂志 2006; 14: 160-163
25 武彩霞, 李娜. 益气活血祛风对致敏大鼠血清IgE及肠黏膜屏障功能的影响. 陕西中医 2011; 32: 363-365
26 李秋霞, 罗茂林, 李茹柳, 陈蔚文. 紧密连接蛋白ZO-1研究概述. 广州中医药大学学报 2007; 24: 523-526
27 Ellencrona K, Syed A, Johansson M. Flavivirus NS5 associates with host-cell proteins zonula occludens-1 (ZO-1) and regulating synaptic membrane exocytosis-2 (RIMS2) via an internal PDZ binding mechanism. *Biol Chem* 2009; 390: 319-323 [PMID: 19199833 DOI: 10.1515/BC.2009.041]
28 Umeda K, Ikenouchi J, Katahira-Tayama S, Furuse K, Sasaki H, Nakayama M, Matsui T, Tsukita S, Furuse M, Tsukita S. ZO-1 and ZO-2 independently determine where claudins are polymerized in tight-junction strand formation. *Cell* 2006; 126: 741-754 [PMID: 16923393 DOI: 10.1016/j.cell.2006.06.043]
29 王颖, 佟静, 王炳元. 乙醇对肠上皮细胞紧密连接蛋白ZO-1表达的影响. 山西医药杂志 2012; 41: 858-860
30 卢璐, 谢建群, 郭春荣. 中药清肠栓对溃疡性结肠炎大鼠结肠黏膜紧密连接蛋白ZO-1、occludin的影响. 世界华人消化杂志 2011; 19: 2322-2327

编辑 田滢 电编 鲁亚静

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

• 消息 •

2012年度《世界华人消化杂志》发文情况

本刊讯 2012-01-01/2012-12-31,《世界华人消化杂志》共收到稿件1539篇, 退稿887篇, 退稿率57.63%, 发表文章652篇, 所有文章均经过编委专家同行评议. 其中, 发表述评34篇(5.21%), 基础研究94篇(14.42%), 临床研究61篇(9.36%), 焦点论坛20篇(3.07%), 文献综述114篇(17.48%), 研究快报86篇(13.19%), 临床经验222篇(34.05%), 病例报告21篇(3.22%); 文章作者分布遍及全国各地, 绝大多数来自高等院校及附属医院. 在此, 特别感谢为《世界华人消化杂志》进行同行评议的各位编委专家, 你们的同行评价对文章发表质量做出了重要贡献; 也希望各位编委踊跃为《世界华人消化杂志》继续撰写高质量的评论性文章, 为科学知识的传播做出贡献! (《世界华人消化杂志》编辑部)

世界华人消化杂志 2013年4月18日; 21(11): 957-962
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

阻断肾素–血管紧张素–醛固酮系统不同环节抗大鼠肝纤维化的实验研究

焦占江, 周 杰, 崔忠林, 钱建平, 曾德华

焦占江, 周杰, 崔忠林, 钱建平, 南方医科大学南方医院肝胆外科 广东省广州市 510515
曾德华, 福州总医院病理科 福建省福州市 350025
焦占江, 博士, 主要从事肝纤维化疾病的基础及临床研究.
广东省自然科学基金资助项目, No. S2011010003901
作者贡献分布: 本研究由焦占江与周杰设计; 研究过程由焦占江, 崔忠林, 钱建平及曾德华操作完成; 数据分析与论文写作由焦占江完成.
通讯作者: 周杰, 510515, 广东省广州市大道北路1838号, 南方医科大学南方医院肝胆外科. zhoujie01@medmail.com.cn
电话: 020-61641701
收稿日期: 2012-09-28 修回日期: 2012-12-25
接受日期: 2013-03-21 在线出版日期: 2013-04-18

Preventive effect of blockage of renin-angiptensin-aldosterone system at different levels against hepatic fibrosis in rats

Zhan-Jiang Jiao, Jie Zhou, Zhong-Lin Cui, Jian-Ping Qian, De-Hua Zeng

Zhan-Jiang Jiao, Jie Zhou, Zhong-Lin Cui, Jian-Ping Qian, Department of Hepatobiliary Surgery, Southern Hospital, Southern Medical College, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China
De-Hua Zeng, Department of Pathology, Fuzhou General Hospital, Fuzhou 350025, Fujian Province, China
Supported by: the Natural Science Foundation of Guangdong Province, No. S2011010003901
Correspondence to: Jie Zhou, Department of Hepatobiliary Surgery, Southern Hospital, Southern Medical College, 1838 North Avenue, Guangzhou 510515, Guangdong, China. zhoujie01@medmail.com.cn
Received: 2012-09-28 Revised: 2012-12-25
Accepted: 2013-03-21 Published online: 2013-04-18

Abstract

AIM: To observe the preventive effect of blockage of the renin-angiptensin-aldosterone system at different levels against hepatic fibrosis in rats and to explore the possible mechanisms involved.

METHODS: Fifty 6-week-old SD rats were equally randomized into five groups: normal control group, model group, captopril group, losartan group and Spironolactone group. The normal group received subcutaneous injection of olive oil, while the other groups received subcutaneous injection of CCl_4 to induce hepatic fibrosis. Next day, rats of the three treatment groups were injected daily with captopril 60 mg/kg, losartan 10 mg/kg and Spironolactone 100 mg/kg, respectively, while the control group and model group were given equal volume of normal saline. All rats were sacrificed at 8 wk. Hepatic fibrosis was evaluated by hematoxylin-eosin staining and Masson staining. The expression of transforming growth factor β1 and connective tissue growth factor was assessed by real-time PCR and Western blot.

RESULTS: Compared to the model group, the progression of hepatic fibrosis was significantly inhibited in the captopril group, losartan group and spironolactone group. The expression of transforming growth factor β1 and connective tissue growth factor in liver tissue was significantly higher in the model group than in the control group (all $P < 0.05$), but was significantly decreased in the captopril group, losartan group and spironolactone group compared to the model group (all $P < 0.05$). There was no significant difference in the expression of transforming growth factor β1 and connective tissue growth factor among the three treatment groups.

CONCLUSION: Blockage of the renin-angiptensin-aldosterone system at different levels could suppress the progression of hepatic fibrosis in rats possibly *via* mechanisms associated with inhibition of expression of transforming growth factor β1 and connective tissue growth factor.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Renin-angiotensin-aldosterone system; Hepatic fibrosis; Transforming growth factor β1; Connective tissue growth factor

Jiao ZJ, Zhou J, Cui ZL, Qian JP, Zeng DH. Preventive effect of blockage of renin-angiptensin-aldosterone system at different levels against hepatic fibrosis in rats. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(11): 957-962 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/957.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i11.957

■背景资料
肝纤维化是诸多肝病共同的病理改变. 转化生长因子β1(TGF-β1)及结缔组织生长因子(CTGF)在肝纤维化形成过程中起着重要的作用. 肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)为一内分泌系统, 具有广泛的生物学效应, 研究表明, 肝脏局部的RAAS参与肝纤维化的发展.

■同行评议者
高润平, 教授, 吉林大学第一医院肝胆胰内科; 姚鹏, 副教授, 中国人民解放军北京军区总医院全军肝病中心

■研发前沿
TGF-β1在调控纤维化发生发展的过程中起核心作用, 促进肝脏间质细胞分化和增殖, 增加ECM的沉积, 抑制其降解; CTGF在肝纤维化的晚期仍高表达, 可能与CTGF持续的致纤维化作用密切相关. 实验证实, CTGF抑制剂可选择性地封闭TGF-β的致纤维化负面效应, CTGF可能是扳动肝纤维化发生、发展的总开关.

摘 要

目的: 探讨阻断肾素-血管紧张素-醛固酮系统不同环节抗大鼠肝纤维化的作用及其机制.

方法: 取6周龄SD大鼠50只, 随机分为正常对照组、模型组、卡托普利组、氯沙坦组和螺内酯组, 每组10只. 正常对照组皮下注射橄榄油, 其余大鼠给予40%CCl_4腹壁皮下注射, 3 mL/kg, 首剂加倍, 1次/3 d, 制备大鼠肝纤维化模型; 次日, 卡托普利组给予血管紧张素转换酶抑制剂卡托普利60 mg/kg、氯沙坦组给予血管紧张素Ⅱ的Ⅰ型受体阻断剂氯沙坦10 mg/kg、螺内酯组给予醛固酮受体拮抗剂螺内酯100 mg/kg, 模型组和正常对照组给予等量的生理盐水, 1次/d, 均经胃管内灌注, 各组动物均于第8周处死, 取材, HE染色和Masson染色观察肝组织病理变化, 分别应用Real-time PCR及Western blot法检测肝组织转化生长因子β1及结缔组织生长因子mRNA和蛋白质表达情况.

结果: 与模型组相比, 卡托普利组、氯沙坦组和螺内酯组肝纤维化程度较模型组明显减轻; 肝组织转化生长因子β1及结缔组织生长因子mRNA和蛋白质表达: 模型组高于正常对照组($P<0.05$); 卡托普利组、氯沙坦组、螺内酯组较模型组均显著下降($P<0.05$), 卡托普利组、氯沙坦组、螺内酯组间无差异($P>0.05$).

结论: 阻断肾素-血管紧张素-醛固酮系统不同环节均可抑制肝纤维化形成, 其作用机制可能与其显著抑制转化生长因子β1及结缔组织生长因子表达有关.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 肾素-血管紧张素-醛固酮系统; 肝纤维化; 转化生长因子β1; 结缔组织生长因子

核心提示: 运用CCl_4诱导的大鼠肝纤维化模型, 说明阻断肾素-血管紧张素-醛固酮系统不同环节对实验性大鼠肝纤维化具有抑制作用.

焦占江, 周杰, 崔忠林, 钱建平, 曾德华. 阻断肾素-血管紧张素-醛固酮系统不同环节抗大鼠肝纤维化的实验研究. 世界华人消化杂志 2013; 21(11): 957-962 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/957.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i11.957

0 引言

肝纤维化是诸多肝病共同的病理改变. 转化生长因子β1(transforming growth factor-β, TGF-β)及结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)在肝纤维化形成过程中起着重要的作用. 肾素-血管紧张素-醛固酮系统(renin-angiotensin-aldosterone system, RAAS)为一内分泌系统, 具有广泛的生物学效应, 作用于全身多个器官. 除了循环系统中存在RAAS. 许多器官, 如心、肾、肺、胰腺及肝脏都存在局部或器官内的RAAS[1]. 研究表明, 肝脏局部的RAAS参与肝纤维化的发展[2]. 虽然RAAS系统在肝病中的作用及机制还没有被完全阐明, 但RAAS可能是抗肝纤维化治疗的潜在靶点.

本实验旨在通过研究阻断RAAS不同环节对CCl_4诱导的肝纤维化大鼠模型的保护作用, 并对其可能机制进行探讨, 为拮抗RAAS不同环节抗肝纤维化提供实验依据.

1 材料和方法

1.1 材料 6周龄清洁级SD大鼠(福建医科大学动物实验中心提供)50只, 雌雄不限, 体质量135-155 g, 室温20 ℃-23 ℃, 湿度50%-60%, 精制饲料喂养. 氯沙坦钾片购自杭州默沙东制药有限公司; 卡托普利片(湖南湘雅制药有限公司产品); 螺内酯片(杭州民生药业集团有限公司产品); Masson三色染色试剂盒购自福建迈新生物技术开发有限公司; TGF-β1抗体、CTGF抗体、β-actin抗体购自Abcam公司; 二抗购自Cellsignaling公司.

1.2 方法

1.2.1 动物分组、模型制备及用药: 将50只大鼠按随机区组设计分为正常组、模型组、卡托普利组、氯沙坦组和螺内酯组, 各10只. 正常组皮下注射橄榄油, 其余大鼠予40%CCl_4腹壁皮下注射, 3 mL/kg, 首剂加倍, 1次/3 d, 复制大鼠肝纤维化模型; 次日, 卡托普利组用血管紧张素转换酶抑制剂卡托普利60 mg/kg、氯沙坦组用血管紧张素Ⅱ的Ⅰ型受体阻断剂氯沙坦10 mg/kg、螺内酯组用醛固酮受体拮抗剂螺内酯100 mg/kg, 模型组和正常对照组给予等量生理盐水, 均经胃管灌注, 1次/d. 各组动物均于第8周处死, 取右肝组织, 液氮保存, 备测.

1.2.2 观察指标: (1)观察大鼠体质量、精神、饮食、活动、死亡等一般情况; (2)肝组织病理学改变: 肝组织用10%多聚甲醛固定, 常规石蜡包埋, 5 μm厚连续切片, 行HE和Massion染色. 观察肝组织病理学改变, 对肝损伤程度采用Knodell指数进行盲法比较和评分[3], 0级: 无纤维化; 1级: 汇管区纤维化; 2级: 汇管区纤维化扩大; 3

级: 桥接样纤维化; 4级: 肝硬化. 大鼠肝组织切片Masson染色后, 每张切片选取四周及中央区域, 选取胶原纤维含量最多的视野, 采用HI-PAS-2000型计算机图像分析系统, 通过显微摄像系统摄取图像并输入图像分析系统进行灰度的变换, 使胶原纤维着色区域与背景分开, 自动记录着色面积和总面积. 于100倍镜下测定胶原纤维面积百分比, 计算方法为: 胶原纤维面积/肝组织面积×100%.

1.2.3 Real-time PCR检测: 取100 mg冻存肝组织标本, 应用TRIzol法抽提组织总RNA. 将总RNA进行逆转录获得cDNA. 引物由Invitrogen公司合成. 序列为: TGF-β1(166 bp)上游, 5'-ACCAACTACTGCTTCAGCTCCACA-3'; 下游, 5'-TGTACTGTGTGTCCAGGCTCCAAA-3'; CTGF(153 bp)上游, 5'-TGCCTACCGACTGGAAGACACATT-3'; 下游, 5'-TCCAGCCTGCAGAAGGTATTGTCA-3'; β-actin(159 bp)上游, 5'-TTGCTGACAGGATGCAGAAGGAGA-3'; 下游, 5'-ACTCCTGCTTGCTGATCCACATCT-3'. Real-time PCR反应: 根据引物序列设置扩增程序, 94 ℃ 5 min、94 ℃ 30 s、56 ℃ 30 s、72 ℃ 30 s、72 ℃ 10 min; 共40个循环. 在200 μL的灭菌离心管中加入(25 μL反应体系): 模板cDNA 0.5 μL; 上游引物0.5 μL; 下游引物0.5 μL, SYBR green supermix, 12.5 μL; 去离子水, 11 μL. 把离心管迅速放入PCR扩增仪, 按扩增程序进行PCR扩增. 数据分析采用仪器自带ABI Prism 7300 SDS Software软件分析, 基因的表达量应用$2^{-\triangle\triangle Ct}$法计算.

1.2.4 Western blot检测: 称取50 mg组织, 加入少量PBS匀浆, 加入蛋白裂解液100 μL Rippa(含1%PMSF蛋白酶抑制剂), 4 ℃反应20 min, 然后12 000 r/min离心30 min, 收集裂解物总蛋白, 取40 μg组织蛋白行十二烷基磺酸钠一聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)并原位电转印至PVDF膜, PVDF膜用脱脂奶粉封闭1 h后, 加入1∶1 000一抗孵育4 ℃过夜, 用PBS-T洗膜3次, 每次10 min, 加入二抗, 室温孵育2 h. 再用PBS-T洗膜3次, 每次5 min. 洗完膜使之稍干, 按1∶1加入AB显影液(与二抗HRP结合), 在Odyssey infrared imaging system中扫描. 然后用ImageJ软件分析灰度值, 再进行计算灰度系数比.

统计学处理 采用SPSS11.0统计软件. 数据以mean±SD表示, 多组计量资料比较采用方差分析, 计以$P<0.05$表示差异有统计学意义.

表 1 各组纤维化面积比、Kondell积分比较 (mean ± SD)

分组	纤维化面积比(%)	Knodell积分
正常对照组	0.71 ± 0.04	0.58 ± 0.02
模型组	23.70 ± 1.87[a]	14.7 ± 0.66[a]
卡托普利组	9.95 ± 0.57[ac]	5.1 ± 0.25[ac]
氯沙坦组	11.18 ± 0.62[ac]	5.25 ± 0.17[ac]
螺内酯组	11.53 ± 0.55[ac]	5.35 ± 0.21[ac]

[a]$P<0.05$ *vs* 正常对照组; [c]$P<0.05$ *vs* 模型组.

2 结果

2.1 各组动物一般状态观察 各组大鼠无死亡, 正常对照组大鼠精神良好, 毛色光泽, 运动活泼, 反应敏锐, 进食、饮水正常, 体质量增加; 模型组大鼠精神萎靡, 活动少, 反应迟钝, 进食、饮水少, 体质量下降明显; 卡托普利组、氯沙坦组及螺内酯组大鼠精神、活动、反应、饮食、体质量均较模型组好.

2.2 肝组织病理变化 HE染色显示正常组见肝细胞以中央静脉为中心向周围呈放射状排列, 结构完整. 模型组显示肝细胞索排列紊乱, 肝细胞呈弥漫性脂肪变性, 空泡形成, 汇管区扩大, 汇管区和肝小叶内可见淋巴细胞浸润, 假小叶形成. 卡托普利组、氯沙坦组、螺内酯组治疗组见肝细胞坏死及空泡变性减少, 淋巴细胞浸润减少(图1). Masson染色可见正常组胶原纤维在血管周围少量表达, 模型组纤维增生明显, 纤维间隔形成, 可见弓形纤维, 部分区域形成假小叶, 卡托普利组、氯沙坦组、螺内酯组胶原纤维减少, 形成的纤维间隔和假小叶明显减少(图2). 各组胶原面积以及运用Knodell指数对肝纤维化程度进行评分, 结果显示, 模型组与正常对照组比较差异有统计学意义, 卡托普利组、氯沙坦组、螺内酯组同模型组比较差异有统计学意义(表1, $P<0.05$), 而卡托普利组、氯沙坦组、螺内酯组间无差异($P>0.05$).

2.3 大鼠肝脏TGF-β1 mRNA及CTGF mRNA的表达 Real-time PCR结果分析显示, 肝纤维化模型组肝脏TGF-β1 mRNA及CTGF mRNA的表达显著高于正常对照组; 卡托普利组、氯沙坦组、螺内酯组较正常对照组增高(P = 0.000、0.004、0.000), 较模型组显著下降(P = 0.000、0.000、0.000), 卡托普利组、氯沙坦组及螺内酯组间无差异($P>0.05$, 表2).

2.4 大鼠肝脏TGF-β1及CTGF蛋白的表达 运用

■相关报道
TGF-β1在肝纤维化过程中可活化肝星状细胞, 还可促进胶原基因的表达, 从而促进细胞外基质的合成与沉积, 是肝纤维化过程中最重的始动因子之一.

■应用要点
结果显示卡托普利组、氯沙坦组、螺内酯组较模型组纤维化程度明显减轻, 说明阻断RAAS不同环节对实验性大鼠肝纤维化具有抑制作用.

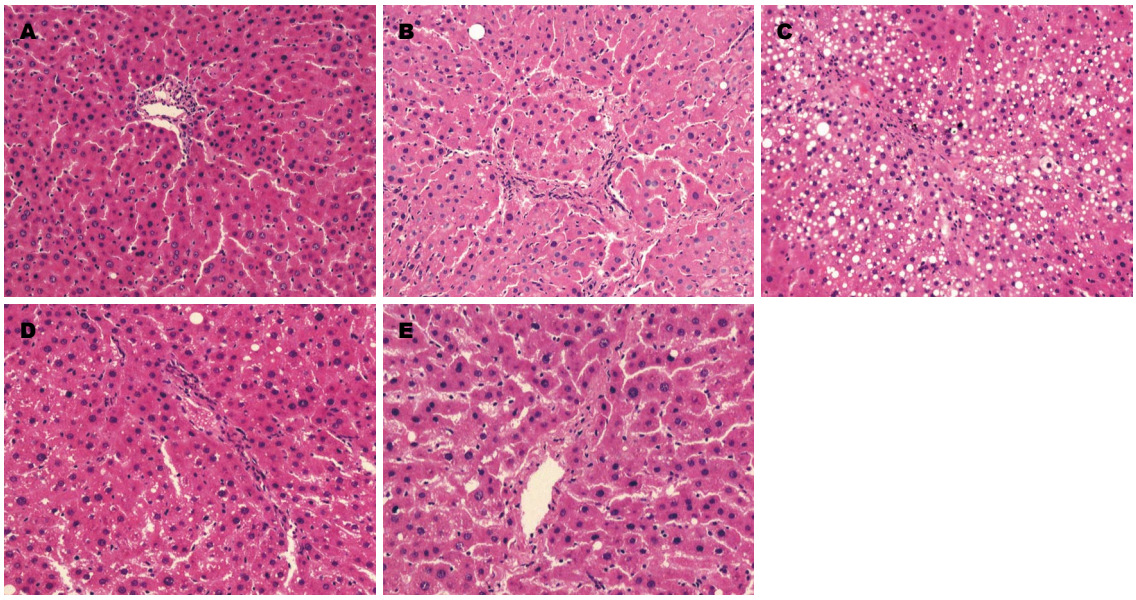


图 1 肝组织HE染色(×100). A: 正常对照组; B: 模型组; C: 卡托普利组; D: 氯沙坦组; E: 螺内酯组.

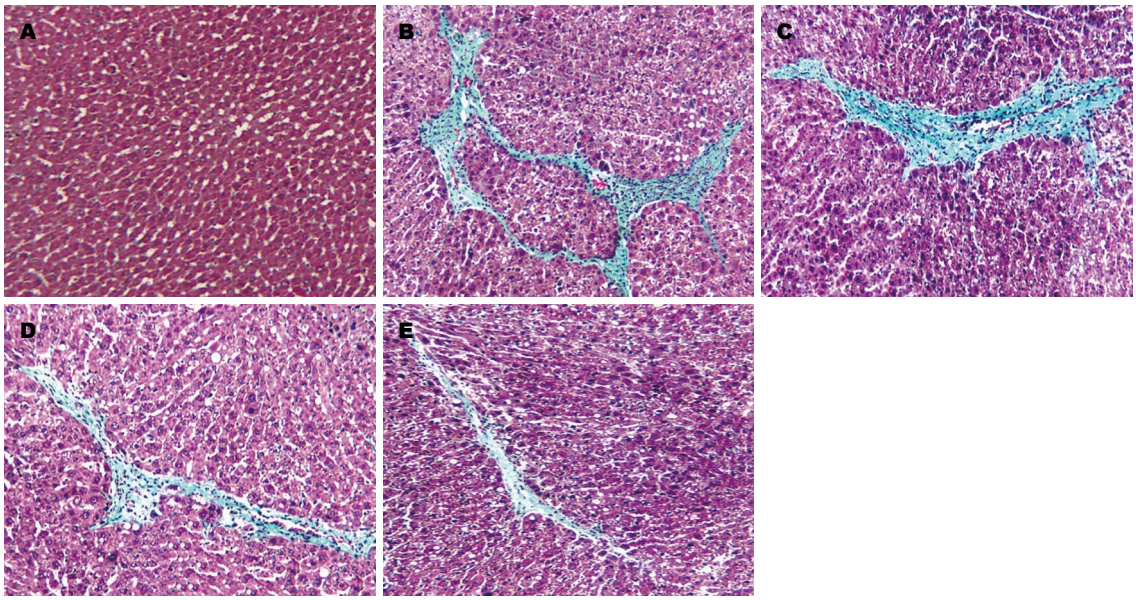


图 2 肝组织Masson染色(×100). A: 正常对照组; B: 模型组; C: 卡托普利组; D: 氯沙坦组; E: 螺内酯组.

Western blot法检测肝脏TGF-β1及CTGF蛋白的表达, 结果显示, 肝纤维化模型组肝脏TGF-β1及CTGF的表达显著高于正常对照组; 卡托普利组、氯沙坦组、螺内酯组TGF-β1及CTGF的表达高于正常对照组(P = 0.000、0.000、0.000), 较模型组显著下降(P = 0.000、0.000、0.000), 卡托普利组、氯沙坦组、螺内酯组间无差异(P>0.05, 图3, 表2).

3 讨论

不同病因(如病毒、乙醇、寄生虫、铜铁沉积等)引起的慢性肝损伤最终导致以胶原为主的细胞外基质(extracellular matri, ECM)成分合成增多, 降解相对不足, 过多沉积在肝内引起肝纤维化[4,5]. 肝纤维化属可逆性病变, 肝硬化则难以逆转. 肝纤维化是肝细胞肝癌的危险因素之一[5].

传统的观念认为: RAAS是一个循环的内分泌系统, 近年陆续研究发现, 完整的RAAS生化链广泛存在于心、脑、血管、肺和肝脏等肾外组织. 且与脏器纤维化密切相关. 研究发现, 各种慢性损害因素引起肝损伤的病理过程中, 损害因素可直接或间接介导免疫病理损伤, 从而导致肝星状细胞、肝窦内皮细胞、枯否细胞以及纤维化附近的炎症细胞等分泌大量的TGF-β1; 同时TGF-β1又可活化星状细胞, 进一步促进ECM成分的合成, 同时抑制ECM的分解,

表 2 各组大鼠肝脏TGF-β1和CTGF的mRNA及蛋白表达 (mean ± SD)

分组	TGF-β1 mRNA	TGF-β1蛋白	CTGF mRNA	CTGF蛋白
正常对照组	1.0 ± 0.00	0.33 ± 0.02	1.00 ± 0.00	0.17 ± 0.01
模型组	3.42 ± 0.12[a]	0.93 ± 0.02[a]	2.72 ± 0.16[a]	0.50 ± 0.02[a]
卡托普利组	2.40 ± 0.09[ac]	0.62 ± 0.04[ac]	1.68 ± 0.11[ac]	0.23 ± 0.01[ac]
氯沙坦组	2.31 ± 0.16[ac]	0.63 ± 0.03[ac]	1.79 ± 0.13[ac]	0.28 ± 0.02[ac]
螺内酯组	2.21 ± 0.12[ac]	0.67 ± 0.03[ac]	1.55 ± 0.10[ac]	0.28 ± 0.02[ac]

[a]*P*<0.05 *vs* 正常对照组; [c]*P*<0.05 *vs* 模型组. TGF-β1: 转化生长因子; CTGF: 结缔组织生长因子.

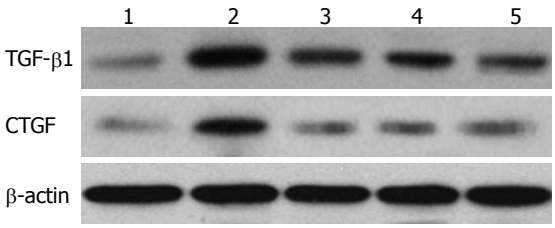


图 3 各组大鼠肝脏TGF-β1及CTGF蛋白的表达. 1: 对照组; 2: 模型组; 3: 卡托普利组; 4: 氯沙坦组; 5: 螺内酯组. TGF-β1: 转化生长因子; CTGF: 结缔组织生长因子.

导致ECM的大量沉积, 从而引发肝纤维化的形成[6,7]. 有报道TGF-β1在肝纤维化过程中可活化肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC), 还可促进胶原基因的表达, 从而促进细胞外基质的合成与沉积, 是肝纤维化过程中最重的始动因子之一, TGF-β1作用涉及面广, 具有双向作用, 即其正常表达时可抑制炎症反应、抑制细胞增殖, 异常表达时可诱导细胞增殖、纤维蛋白的形成, 从而促进纤维化的发生和发展[8].

研究表明, TGF-β1在调控纤维化发生发展的中起着核心作用[9], 具有促进肝脏间质细胞分化和增殖, 增加ECM的沉积, 抑制其降解的作用[10]. TGF-β1可抑制肝细胞再生, 促其凋亡, 使肝实质细胞与间质成分比例失调, 导致肝脏外基质代谢紊乱, 在Disse间隙过度沉积. 肝脏过表达TGF-β1的转基因小鼠导致肝纤维化快速进展, 运用TGF-β1反义寡核苷酸能够显著抑制CCl_4诱导的大鼠肝纤维化[11]. 因此, 通过抑制TGF-β1的合成和/或其信号传导是治疗纤维化的重要策略. 但TGF-β1在纤维化过程中并不是孤立存在和发挥作用, 而是与其他因子协同发挥作用[12,13]. 各种细胞因子网络对肝纤维化进程进行调控, 一方面影响肝星状细胞活化, 另一方面调节细胞外基质和降解平衡[14]. 既往研究表明, CTGF和TGF-β1与各种纤维化进程的关系极为密切, 两者的单独作用及协同作用对肝纤维化进程有着重大影响[15].

CTGF是一种富含半胱氨酸的蛋白质具有广泛的细胞生物学作用. 可启动一系列介导组织创伤和再生的生物学过程[16]. 在肝纤维化形成过程中, CTGF主要来源于HSC, 具有诱导HSC迁移、增殖、黏附和促进Ⅰ型胶原的表达[17]. 研究表明CTGF mRNA和蛋白表达水平与肝纤维化的程度成正相关, 而与疾病的类型无关; 有研究表明, 在肝组织中CTGF主要来源于HSC, 随着HSC由原代向活化状态转化, CTGF mRNA随着感染时间延长呈进行性上调[18]. 多项研究表明, CTGF在肝纤维化的晚期仍有高水平表达, 可能与CTGF持续的致纤维化作用密切相关[19,20]. 实验证实, CTGF抑制剂可选择性地封闭TGF-β的致纤维化负面效应[21], CTGF可能是扳动肝纤维化发生、发展的总开关[18,22].

研究表明, 运用siRNA使CTGF的表达沉默可具有防治肝纤维化的作用[23]. 结果显示, 同正常大鼠相比, CCl_4诱导的肝纤维化大鼠肝脏在出现组织病理学异常的同时伴有TGF-β1和CTGF表达增高. 大量体内外研究结果表明CTGF为TGF-β1下游的纤维化活性效应分子. TGF-β1引起的CTGF表达上调在肝纤维化形成的过程中可能发挥着关键作用[24,25].

本实验运用CCl_4诱导的大鼠肝纤维化模型, 结果显示卡托普利组、氯沙坦组、螺内酯组较模型组纤维化程度明显减轻, 说明阻断RAAS不同环节对实验性大鼠肝纤维化具有抑制作用. Real-time PCR和Western blot结果显示, 模型组大鼠肝脏中TGF-β1及CTGF的表达明显增强, 而卡托普利组、氯沙坦组、螺内酯组较模型组表达明显减弱, 并与肝纤维化程度相一致, 提示阻断RAAS不同环节对实验性大鼠肝纤维化的预防作用机制可能与TGF-β1和CTGF的表达减低有关.

■同行评价
本文通过阻断大鼠肝纤维化模型中RAAS不同环节, 探讨该系统在肝纤维化中的作用及机制, 在国内具有一定先进性.

4 参考文献

1 Bataller R, Sancho-Bru P, Ginès P, Lora JM, Al-Garawi A, Solé M, Colmenero J, Nicolás JM, Jiménez W, Weich N, Gutiérrez-Ramos JC, Arroyo V, Rodés J. Activated human hepatic stellate cells express the renin-angiotensin system and synthesize angiotensin II. *Gastroenterology* 2003; 125: 117-125 [PMID: 12851877 DOI: S0016508503006954]

2 Paizis G, Gilbert RE, Cooper ME, Murthi P, Schembri JM, Wu LL, Rumble JR, Kelly DJ, Tikellis C, Cox A, Smallwood RA, Angus PW. Effect of angiotensin II type 1 receptor blockade on experimental hepatic fibrogenesis. *J Hepatol* 2001; 35: 376-385 [PMID: 11592599 DOI: S0168-8278(01)00146-5]

3 Brunt EM. Grading and staging the histopathological lesions of chronic hepatitis: the Knodell histology activity index and beyond. *Hepatology* 2000; 31: 241-246 [PMID: 10613753 DOI: 10.1002/hep.510310136]

4 Friedman SL. Liver fibrosis -- from bench to bedside. *J Hepatol* 2003; 38 Suppl 1: S38-S53 [PMID: 12591185 DOI: S0168827802004294]

5 Ginès P, Cárdenas A, Arroyo V, Rodés J. Management of cirrhosis and ascites. *N Engl J Med* 2004; 350: 1646-1654 [PMID: 15084697 DOI: 10.1056/NEJMra035021]

6 Kothary PC, Badhwar J, Weng C, Del Monte MA. Impaired intracellular signaling may allow upregulation of CTGF-synthesis and secondary peri-retinal fibrosis in human retinal pigment epithelial cells from patients with age-related macular degeneration. *Adv Exp Med Biol* 2010; 664: 419-428 [PMID: 20238043 DOI: 10.1007/978-1-4419-1399-9_48]

7 Sobrevals L, Rodriguez C, Romero-Trevejo JL, Gondi G, Monreal I, Pañeda A, Juanarena N, Arcelus S, Razquin N, Guembe L, González-Aseguinolaza G, Prieto J, Fortes P. Insulin-like growth factor I gene transfer to cirrhotic liver induces fibrolysis and reduces fibrogenesis leading to cirrhosis reversion in rats. *Hepatology* 2010; 51: 912-921 [PMID: 20198635 DOI: 10.1002/hep.23412.]

8 Ruddell RG, Hoang-Le D, Barwood JM, Rutherford PS, Piva TJ, Watters DJ, Santambrogio P, Arosio P, Ramm GA. Ferritin functions as a proinflammatory cytokine via iron-independent protein kinase C zeta/nuclear factor kappaB-regulated signaling in rat hepatic stellate cells. *Hepatology* 2009; 49: 887-900 [PMID: 19241483 DOI: 10.1002/hep.22716.]

9 Bataller R, Brenner DA. Liver fibrosis. *J Clin Invest* 2005; 115: 209-218 [PMID: 15690074 DOI: 10.1172/JCI24282]

10 王爱民, 王俊红, 马红菊, 张秀巧, 郭俊英, 韩涛, 王宝恩. 生长因子对大鼠肝星状细胞间质胶原酶基因表达的调节作用. 中华实验外科杂志 2003; 20: 234-235

11 Doh KO, Jung HK, Moon IJ, Kang HG, Park JH, Park JG. Prevention of CCl4-induced liver cirrhosis by ribbon antisense to transforming growth factor-beta1. *Int J Mol Med* 2008; 21: 33-39 [PMID: 18097613]

12 Chu D, Luo Q, Li C, Gao Y, Yu L, Wei W, Wu Q, Shen J. Paeoniflorin inhibits TGF-beta1-mediated collagen production by Schistosoma japonicum soluble egg antigen in vitro. *Parasitology* 2007; 134: 1611-1621 [PMID: 17524166 DOI: 10.1017/S0031182007002946]

13 Huang J, Huang H, Jiao Y, Ai G, Huang T, Li L, Yu H, Ma K, Xiao F. Effect of anluohuaxian tablet combined with gamma-IFN on schistosomal liver fibrosis. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2009; 29: 53-58 [PMID: 19224163]

14 Techau ME, Johansen MV, Aasted B, Lind P, Ornbjerg N, Oswald IP. Cytokine mRNA profiles in pigs exposed prenatally and postnatally to Schistosoma japonicum. *Vet Res* 2007; 38: 25-36 [PMID: 17074293 DOI: 10.1051/vetres]

15 Gressner OA, Lahme B, Demirci I, Gressner AM, Weiskirchen R. Differential effects of TGF-beta on connective tissue growth factor (CTGF/CCN2) expression in hepatic stellate cells and hepatocytes. *J Hepatol* 2007; 47: 699-710 [PMID: 17629588 DOI: 10.1016/j.jhep.2007.05.015]

16 中华肝脏病学会肝纤维化学组. 肝纤维化诊断与疗效评估共识. 中华肝脏病杂志 2002; 10: 327-328

17 Gao R, Ball DK, Perbal B, Brigstock DR. Connective tissue growth factor induces c-fos gene activation and cell proliferation through p44/42 MAP kinase in primary rat hepatic stellate cells. *J Hepatol* 2004; 40: 431-438 [PMID: 15123357 DOI: 10.1016/j.jhep.2003.11.012]

18 Paradis V, Dargere D, Bonvoust F, Vidaud M, Segarini P, Bedossa P. Effects and regulation of connective tissue growth factor on hepatic stellate cells. *Lab Invest* 2002; 82: 767-774 [PMID: 12065687]

19 Paradis V, Dargere D, Vidaud M, De Gouville AC, Huet S, Martinez V, Gauthier JM, Ba N, Sobesky R, Ratziu V, Bedossa P. Expression of connective tissue growth factor in experimental rat and human liver fibrosis. *Hepatology* 1999; 30: 968-976 [PMID: 10498649 DOI: 10.1002/hep.510300425]

20 Yang AP, Bai YF, You H. Connective tissue growth factor: a fibrogenic master switch in fibrotic liver diseases. *Chinese Hepatology* 2009; 14: 337-339

21 Gressner OA, Gressner AM. Connective tissue growth factor: a fibrogenic master switch in fibrotic liver diseases. *Liver Int* 2008; 28: 1065-1079 [PMID: 18783549 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2008.01826.x]

22 Zhou WL, Wang Y, Zhang J. Inhibitory effects of shRNA targeting CTGF in transforming growth factor β1-induced collagensynthesis in human renal tubular epithelial cells. *China Journal of Modern Medicine* 2006; 16: 981-984

23 Li G, Xie Q, Shi Y, Li D, Zhang M, Jiang S, Zhou H, Lu H, Jin Y. Inhibition of connective tissue growth factor by siRNA prevents liver fibrosis in rats. *J Gene Med* 2006; 8: 889-900 [PMID: 16652398 DOI: 10.1002/jgm.894]

24 Rachfal AW, Brigstock DR. Connective tissue growth factor (CTGF/CCN2) in hepatic fibrosis. *Hepatol Res* 2003; 26: 1-9 [PMID: 12787797 DOI: S1386634603001153.]

25 Sun K, Wang Q, Huang XH. PPAR gamma inhibits growth of rat hepatic stellate cells and TGF beta-induced connective tissue growth factor expression. *Acta Pharmacol Sin* 2006; 27: 715-723 [PMID: 16723090 DOI: 10.1111/j.1745-7254.2006.00299.x]

编辑 翟欢欢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2013年4月18日; 21(11): 963-969
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

表皮型脂肪酸结合蛋白在不同种属肝癌组织中的高表达及其临床意义

史俊林, 曹 骥, 苏建家, 杨 春, 欧 超, 汪多平, 李 瑗

史俊林, 曹骥, 苏建家, 杨春, 欧超, 汪多平, 李瑗, 广西医科大学附属肿瘤医院 广西壮族自治区南宁市 530021
史俊林, 广西医科大学转化医学研究中心 广西医科大学研究生院 广西壮族自治区南宁市 530021
史俊林, 硕士, 主要从事肝癌病因学的基础与临床研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 30560167; No. 30960428
广西科技厅基金资助项目, No. 桂科自0728195
广西研究生教育创新计划基金资助项目, No. 2009105981002M181
作者贡献分布: 本课题由李瑗设计; 文献检索、实验、数据收集及统计学分析由史俊林、曹骥、苏建家、杨春、欧超及汪多平完成; 论文撰写由史俊林与李瑗完成.
通讯作者: 李瑗, 主任医师, 530021, 广西壮族自治区南宁市河堤路71号, 广西医科大学附属肿瘤医院实验研究部.
liyuangx@yahoo.com.cn
收稿日期: 2013-01-21 修回日期: 2013-01-31
接受日期: 2013-03-31 在线出版日期: 2013-04-18

Clinical significance of up-regulated expression of epidermal fatty acid binding protein in hepatocellular carcinoma tissues from different species

Jun-Lin Shi, Ji Cao, Jian-Jia Su, Chun Yang, Chao Ou, Duo-Ping Wang, Yuan Li

Jun-Lin Shi, Ji Cao, Jian-Jia Su, Chun Yang, Chao Ou, Duo-Ping Wang, Yuan Li, Department of Experimental Pathology, Cancer Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Jun-Lin Shi, Center for Translational Medicine of Guangxi Medical University, Graduate School of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 30560167 and 30960428; the Natural Science Foundation of Guangxi, No. 0728195; the Guangxi Graduate Education Innovation Project, No. 2009105981002M181
Correspondence to: Yuan Li, Chief Physician, Cancer Hospital of Guangxi Medical University, 71 Hedi Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. liyuangx@yahoo.com.cn
Received: 2013-01-21 Revised: 2013-01-31
Accepted: 2013-03-31 Published online: 2013-04-18

Abstract

AIM: To investigate the differential expression of epidermal fatty acid binding protein (E-FABP) in hepatocellular carcinoma (HCC) tissues from different species and to analyze the relationship between the expression of E-FABP and clinicopathological parameters of HCC.

METHODS: Immunohistochemical staining was performed to detect the expression of E-FABP in tissue samples of HCC, tumor-adjacent liver samples and normal liver samples collected from human, tree shrew and rats. Reverse transcription PCR (RT-PCR) was used to detect the expression of E-FABP mRNA in 60 human HCC and matched tumor-adjacent specimens. Statistical analysis was performed to analyze the relationship between E-FABP expression and clinicopathological parameters of HCC, including serum alpha-fetoprotein (AFP).

RESULTS: The expression of E-FABP protein increased significantly in HCC tissues of all the three species (all $P < 0.05$). E-FABP mRNA expression increased significantly in human HCC tissues ($P < 0.05$). Analysis of the relationship between expression of E-FABP and clinicopathological parameters of HCC showed that E-FABP expression was related to HCC metastasis. Combined detection of liver E-FABP and serum AFP might be helpful to detect early HCC.

CONCLUSION: E-FABP may be used as a biomarker for predicting HCC metastasis and diagnosing early HCC. Since E-FABP is differentially expressed in HCC tissues of different species, it may play a key role in hepatocarcinogenesis and therefore might be used as a target for preventing or treating HCC.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Epidermal fatty acid binding protein; Cross-species; Metastasis

Shi JL, Cao J, Su JJ, Yang C, Ou C, Wang DP, Li Y. Clinical significance of up-regulated expression of epidermal fatty acid binding protein in hepatocellular carcinoma tissues from different species. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(11): 963-969 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/963.asp DOI: http://dx.doi.

■背景资料
肝细胞癌(HCC)是全球尤其是我国最常见的预后凶险的恶性肿瘤之一, 预测其发病数和死亡数据在我国未来20年仍将呈现上升趋势, 因此发现肝癌的关键分子、探明肝癌发生发展机制对防治肝癌、提高国民健康水平具有重大意义.

■同行评议者
季国忠, 教授, 南京医科大学第二附属医院消化科

■研发前沿
跨种属筛选肿瘤关键基因是肿瘤研究的新策略，国内尚少见相关报道.

org/10.11569/wcjd.v21.i11.963

摘要

目的: 进一步验证表皮型脂肪酸结合蛋白(epidermal fatty acid binding protein, E-FABP)在不同种属的肝癌组织中的差异表达, 分析其与肝癌患者临床病理指标的相关性, 以探讨E-FABP在肝癌诊断及治疗中的意义.

方法: 应用免疫组织化学染色方法检测E-FABP在人、低等灵长类动物树鼩和啮齿类动物大鼠的肝癌及其相应癌旁组织以及正常肝组织中的差异表达情况; 应用反转录-聚合酶反应(reverse transcription PCR, RT-PCR)技术检测E-FABP mRNA在60例人肝癌及其相应的癌旁组织中的差异表达情况. 应用统计学方法分析E-FABP mRNA表达水平改变与肝癌患者的临床病理特征、血清甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)水平的相关性.

结果: 免疫组织化学染色结果显示E-FABP蛋白在人、树鼩和大鼠肝癌组织中的表达均明显上调(F值分别为12.314、11.387和11.206, P值均<0.05); RT-PCR检测结果显示E-FABP mRNA在人肝癌组织中的表达明显上调(F = 12.815, P<0.05); E-FABP mRNA表达水平与肝癌患者的临床病理特征的关系分析显示E-FABP在肝脏组织的高表达可能与肝癌的转移有关、E-FABP和AFP联合检测有可能提高肝癌的早期诊断率.

结论: E-FABP有可能作为新的生物标志应用于肝癌的预测转移和早期诊断; E-FABP在不同种属的肝癌组织中共同高表达这一现象, 提示其可能是肝癌发生发展过程中的关键分子之一, 有可能作为防治肝癌的分子靶标.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 肝癌; 表皮型脂肪酸结合蛋白; 跨种属; 转移

核心提示: 应用跨种属筛选肿瘤关键基因这一新的肿瘤研究策略筛选出肝癌关键基因候选分子表皮型脂肪酸结合蛋白(epidermal fatty acid binding protein), 并对其进行跨种属的表达验证及其与肝癌临床病理特征相关性的分析, 认为其是跨种属保守存在的可用于预测肝癌转移和早期诊断的新标志.

史俊林, 曹骥, 苏建家, 杨春, 欧超, 汪多平, 李瑗. 表皮型脂肪酸结合蛋白在不同种属肝癌组织中的高表达及其临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(11): 963-969 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/963.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i11.963

0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是一种常见并且预后凶险的恶性肿瘤, 在全球男性和女性恶性肿瘤死因排行中分别位列第2位和第6位. 全世界每年的新发病例高达500 000, 其中一半以上发生在我国[1-4], 并且据预测在未来20年我国肝癌的发病数和死亡数均将呈现上升趋势[5]. 因此, 发现肝癌的关键分子、探明肝癌发生发展机制对防治肝癌、提高国民健康水平具有重大意义.

跨种属筛选肿瘤基因是一新的肿瘤研究策略, 是指通过比较不同种属的个体所患的某同种肿瘤的基因表达谱间的相似改变, 来探寻在该种肿瘤发生发展中起关键作用的分子[6-8]. 本课题组前期在一系列的实验观察基础上, 提出假设, 即通过探索人类和其他种类动物的肝癌共同拥有的分子改变有可能筛选出影响肝癌发生发展的关键分子, 并随后初步建立了跨种属的肝癌相关分子数据集以及通过反转录-聚合酶反应(reverse transcription PCR, RT-PCR)和Western blot技术对数据集中的部分候选分子如表皮型脂肪酸结合蛋白(epidermal fatty acid binding protein, E-FABP)等在肝癌组织中的差异表达进行了初步验证, 发现E-FABP在人、低等灵长类动物树鼩和啮齿类动物大鼠的肝癌组织中的mRNA表达水平和蛋白表达水平均上调, 提示其很有可能是一种跨种属保守存在的影响肝癌发生发展的关键分子[9-16]. 本研究一方面进一步用免疫组织化学方法验证E-FABP蛋白在上述3个种属的肝癌组织中的差异表达, 另一方面则以RT-PCR方法检测了更大样本量(60例)的人肝癌、癌旁和正常肝组织中的E-FABP mRNA表达水平, 并对后者与肝癌患者的临床病理特征及血清甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)水平的关系进行了分析, 以期了解E-FABP在肝癌发生发展中的意义和在肝癌诊治中的应用前景.

1 材料和方法

1.1 材料 10例树鼩和大鼠肝癌、癌旁及正常肝组织石蜡包埋标本来自本实验室前期的动物实验[16]. 10例人肝癌、癌旁及正常肝组织石蜡包埋标本来自本院临床病理科. 60例人肝癌及其相应的癌旁组织(距离肿瘤边缘2 cm以外)冷冻标本为本院肝胆外科2003-2005年手术切除后保存, 其中男50例、女10例, 平均年龄46岁. 患者术前均未接受放化疗、生物治疗等干预措施.

15例正常人肝组织冷冻标本为广西医科大学第一附属医院普通外科保存. 兔抗人E-FABP多克隆抗体和羊抗兔辣根过氧化物酶(HRP)连接二抗购自美国Santa Cruz公司; SP试剂盒(含动物血清封闭液、生物素标记二抗和链霉亲和素过氧化物酶耦联物)和DAB(二氧基联苯胺)浓缩显色液购自福州迈新生物技术开发有限公司; 逆转录试剂盒购自美国Fermentas(MBI)公司; PCR试剂购自大连宝生生物有限公司; PCR引物序列经Primer 5.0软件设计或经Blast序列对比, 选取人鼠同源序列, 由上海生物工程公司合成.

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学染色: 检测标本为人、树鼩及大鼠肝癌、癌旁及正常肝组织各10例. 免疫组织化学SP法检测步骤按试剂盒使用说明进行, 兔抗人E-FABP多克隆抗体1∶200稀释. 每批标本以已知阳性样本为阳性对照, 以PBS代替一抗为阴性对照. E-FABP阳性细胞在显微镜下显示为细胞浆呈黄色或棕黄色, 阴性细胞无着色. 定量分析染色结果的步骤为: 于切片的上、下、左、右、中各选取一个400倍视野采图, 通过Image Pro Plus 6.0软件读取每张图片阳性表达区域的平均吸光度(*A*)值, 以5张图片的平均*A*值代表该切片的染色结果.

1.2.2 半定量RT-PCR: 检测标本为60例人肝癌及其相应的癌旁组织、15例正常人肝组织. 检测步骤、目的基因E-FABP和内参基因β肌动蛋白(β-actin)的引物序列详见以往报道[16]. PCR产物经1.5%琼脂糖凝胶电泳分离后, 用凝胶成像分析系统分析各样本E-FABP mRNA和β-actin mRNA条带的灰度值, 得到经过内参校正的目的基因相对表达量的数值.

1.2.3 肝癌患者临床病理资料的采集: 从本院病案室查阅和记录以上60例肝癌患者的临床、病理资料以及复诊、回访记录.

统计学处理 用SPSS17.0统计软件对检测数据进行分析. 其中, 免疫组织化学染色结果采用单因素方差分析, 3组数据两两比较; E-FABP mRNA半定量结果与肝癌患者临床病理参数的相关性分析采用χ^2检验, 与肝癌患者血清AFP的相关性分析采用配对四格表χ^2检验. 实验数据以mean±SD表示, $P<0.05$为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 免疫组织化学染色 检测结果显示E-FABP在人、树鼩和大鼠3个物种的肝癌组织中均为表达上调(图1). 经病理图像分析系统定量分析, E-FABP蛋白在人肝癌、癌旁及正常肝组织中的平均*A*值为0.167±0.033、0.103±0.028和0.110±0.033; 在树鼩肝癌、癌旁及正常肝组织中的平均*A*值为0.161±0.030、0.109±0.014和0.117±0.031; 在大鼠肝癌、癌旁及正常肝组织中平均*A*值为0.159±0.036、0.115±0.019和0.106±0.022. 即E-FABP蛋白在3个物种的肝癌组织中的表达均显著高于癌旁和正常肝组织, *F*值分别为12.314、11.387和11.206, *P*值均<0.05(图2).

2.2 RT-PCR 检测结果显示E-FABP mRNA在人肝癌组织中表达上调(图3A). 经凝胶成像系统半定量分析, E-FABP mRNA在人肝癌及其癌旁和人正常肝组织中的表达量分别为0.830±0.185、0.680±0.146和0.714±0.153, 在肝癌组织中的表达显著高于癌旁和正常肝组织($F = 12.815$, $P<0.05$)(图3B).

2.3 肝癌组织E-FABP mRNA表达上调与患者临床病理特征的相关性 经内参基因的电泳条带灰度值校正后, 肝癌组织的E-FABP mRNA电泳条带灰度值与其相应的癌旁组织的比值≥1.1即定义为E-FABP mRNA表达上调, 共44例(73.3%). 相关性分析结果显示E-FABP mRNA表达上调与肝癌转移明显相关: 87.8%(36/41)的无肝外转移病例表现为肝癌组织中E-FABP mRNA表达上调, 而有肝外转移的肝癌组织中E-FABP mRNA的高表达率仅为42.1%(8/19), 二者差别显著($\chi^2 = 13.866$, $P<0.05$). E-FABP mRNA表达上调与肝癌患者年龄、性别、有无HBV感染、有无包膜、有无肝硬化、有无门脉癌栓、肿瘤个数和肿瘤大小等其他临床病理特征无明显相关性(表1).

2.4 E-FABP mRNA在肝癌组织中的表达与患者血清AFP水平的相关性及联合高表达率 以20 ng/mL为血清AFP截断值[17], 本研究的60例肝癌患者中44例(73.3%)术前血清AFP水平升高; 血清AFP水平升高和/或肝癌组织E-FABP mRNA表达上调的患者共56例(93.3%). 在血清AFP阳性的44例中, 32例(72.7%)肝癌组织E-FABP mRNA表达上调; 在血清AFP阴性的16例中, 12例(75.0%)肝癌组织E-FABP mRNA表达上调. 配对四格表χ^2检验显示肝癌组织中E-FABP mRNA表达上调和血清AFP水平升高无显著相关性.

3 讨论

本研究的验证结果与本课题组前期报道的实

■创新盘点

本研究不仅提示E-FABP有可能作为预测肝癌转移和早期诊断的新标志. 同时, 本研究涉及的这种跨种属筛选和检测肝癌差异表达基因的研究策略或可为肿瘤相关研究提供新的思路和线索.

■同行评价
本文应用免疫组织化学和逆转录PCR研究表皮型脂肪酸结合蛋白在不同种属间的肝癌、癌旁及正常肝组织中的表达差异, 并分析其与肝癌患者临床资料的相关性, 对肝癌的诊断有一定的参考价值.

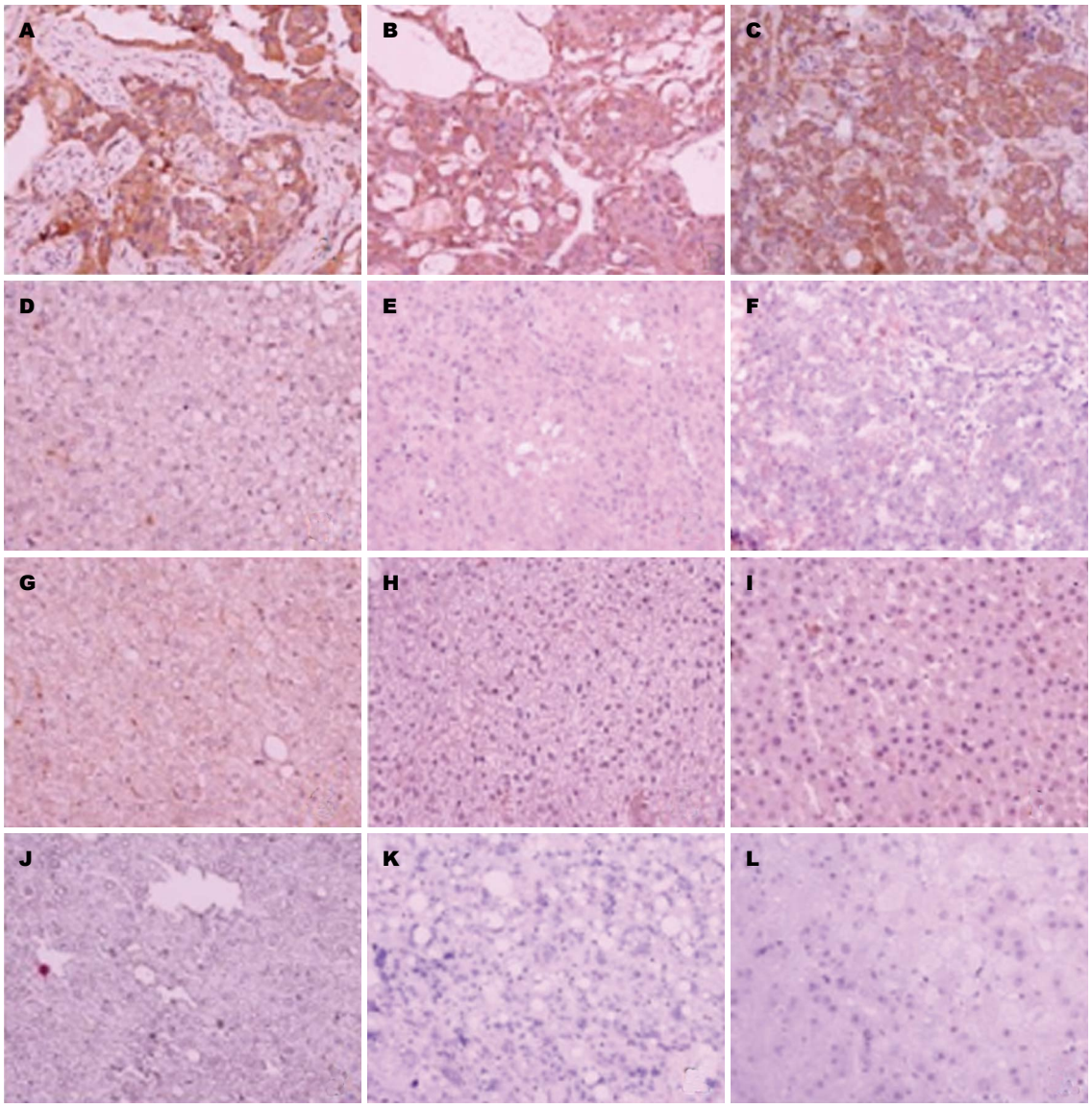


图 1 免疫组织化学染色法检测E-FABP蛋白在人、树鼩和大鼠肝癌、癌旁及正常肝组织的表达(SP, ×400). A-C: 人、树鼩和大鼠肝癌组织; D-F: 人、树鼩和大鼠癌旁组织; G-I: 人、树鼩和大鼠正常肝组织; J-L: 阴性对照(染色过程中以PBS取代一抗), 分别为人正常肝组织、树鼩和大鼠肝癌组织.

验结果及文献相关结果[18,19]相符, 再次表明E-FABP在不同种属肝癌组织的mRNA和蛋白表达水平均上调. 同时, 本研究结果还显示87.8%没有肝外转移的肝癌组织表现为E-FABP mRNA表达上调, 而有肝外转移的肝癌组织的E-FABP mRNA表达上调率仅为42.1%, 两者差异显著(P<0.05), 提示E-FABP在肝癌组织中表达水平的改变可能与肝癌转移有关.

此外, 本研究结果显示肝癌患者血清AFP水平升高和癌组织中E-FABP mRNA表达上调之间无相关性, 二者联合检测可获得高达93.3%的阳性率, 而AFP或E-FABP mRNA单独检测的阳性率均仅为73.3%, 提示联合应用这两个指标可以提高肝癌的检出率.

E-FABP表达水平的改变也见于其他组织来源的恶性肿瘤, 如最近刘倩等[20]应用免疫组织化学的方法检测287例原发性非小细胞肺癌的E-FABP表达, 发现其在正常肺组织、非小细胞肺癌原发癌组织和淋巴结转移癌组织中的阳性表达率分别为24.1%、58.2%和19.4%, 差异具有统计学意义, 表明E-FABP与肺癌的转移有关. 台湾国立成功大学医学院口腔医学研究所的Fang等[21]证实过表达E-FABP能够促进口腔癌细胞的增殖与侵袭, 而抑制E-FABP的表达可以抑制癌细胞的增殖率和侵袭性. Morgan等[22]通过体内外干扰前列腺癌细胞表达E-FABP, 证实E-FABP的表达下调可以阻碍前列腺癌细胞的生长和侵袭. 李华等[23]报道E-FABP的表达水平与乳腺浸

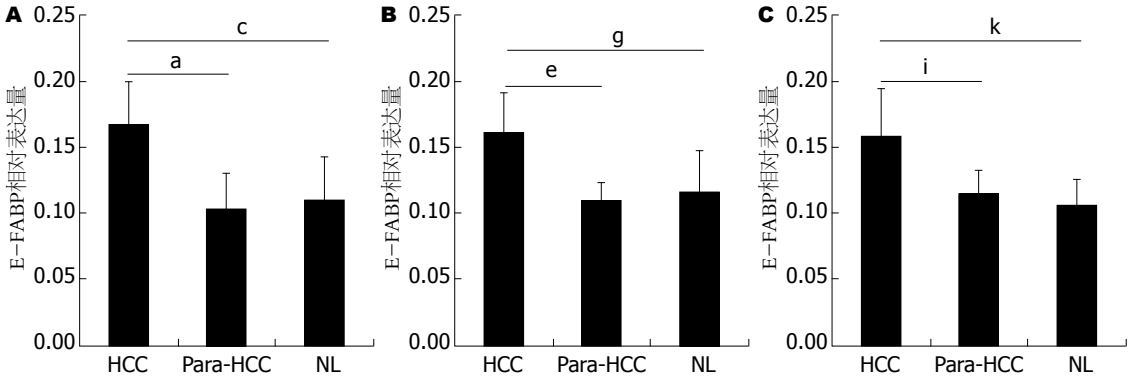


图 2　免疫组织化学染色结果经病理图像分析系统的定量分析. A: 人HCC分别与Para-HCC和NL进行比较, [a]*P*<0.05, HCC *vs* Para-HCC, [c]*P*<0.05, HCC *vs* NL; B: 树鼩HCC分别与Para-HCC和NL进行比较, [e]*P*<0.05, HCC *vs* Para-HCC, [g]*P*<0.05, HCC *vs* NL; C: 大鼠HCC分别与Para-HCC和NL进行比较, [i]*P*<0.05, HCC *vs* Para-HCC, [k]*P*<0.05, HCC *vs* NL, HCC: 肝癌组织; Para-HCC: 癌旁组织; NL, 正常肝组织.

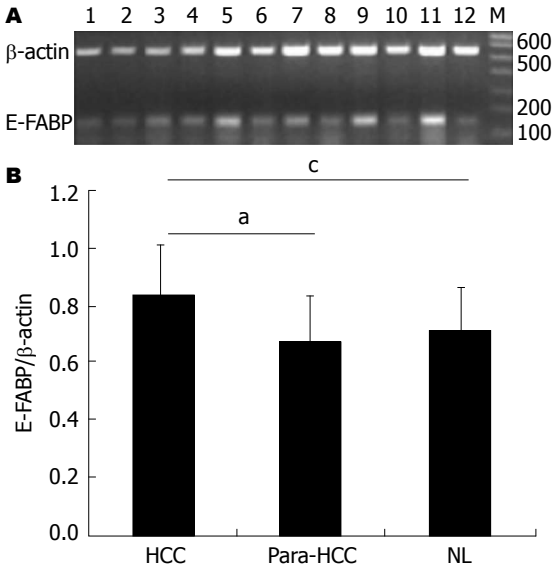


图 3　RT-PCR检测E-FABP mRNA在人肝癌及其癌旁和人正常肝组织中的表达. A: RT-PCR检测结果. 1、2、3、4: 正常人肝组织; 5、7、9、11: 人肝癌组织; 6、8、10、12: 相应癌旁组织; M: DNA Marker; B: RT-PCR检测结果的半定量分析; HCC分别与Para-HCC和NL进行比较, [a]*P*<0.05, HCC *vs* Para-HCC, [c]*P*<0.05, HCC *vs* NL. HCC: 肝癌组织; Para-HCC: 癌旁组织; NL: 正常肝组织.

润性导管癌的组织学级数、病理进程和恶化程度密切相关: E-FABP在Ⅰ级(高分化)浸润性导管癌的表达水平较高, 在Ⅱ级(中分化)的表达水平有所下降, 在Ⅲ级(低分化)的表达水平明显下调; 赵亮等[24]通过检测E-FABP在具有不同转移潜力的大肠癌细胞株中的表达情况, 发现其在高转移细胞株中低表达; Rauch等[25]报道E-FABP在头颈部原位癌和肿瘤发展早期阶段的癌组织中表达高于转移癌和肿瘤进展及末期阶段的癌组织. Jing等[26]于2000年报道E-FABP表达上调可

表 1　E-FABP表达上调与肝癌患者临床病理特征关系
n(%)

临床病理参数	*n*	E-FABP表达上调例数	χ^2	*P*值
n	60	44		
性别			0.017	0.715
男	50	36(72.0)		
女	10	8(80.0)		
年龄(岁)			1.159	0.263
>55	13	7(53.8)		
≤55	47	37(78.7)		
HBsAg			0.107	0.710
阳性	49	35(71.4)		
阴性	11	9(81.8)		
包膜			0.000	1.000
无或不完整	48	35(72.9)		
完整	12	9(75.0)		
肝硬化			0.017	0.715
有	50	36(72.0)		
无	10	8(80.0)		
肿瘤数目			1.539	0.153
单发	48	33(68.8)		
多发	12	11(91.7)		
肿瘤最大直径(cm)			0.009	1.000
>5	54	39(72.2)		
≤5	6	5(83.3)		
门脉癌栓			0.000	1.000
有	7	5(71.4)		
无	53	39(73.6)		
复发			1.364	0.243
有	30	20(66.7)		
无或未知	30	24(80.0)		
肝外转移			13.866	0.000
有	19	8(42.1)		
无	41	36(87.8)		

诱导非转移性的大鼠乳腺上皮细胞Rama 37转移至肺和淋巴结, 该作者随后于2001年报道E-FABP诱导转移的作用可能是通过上调血管内皮生长因子来实现[27]. Adamson等[28]在前列腺癌的相关研究中也发现抑制E-FABP的表达来减少肿瘤的发生可能是通过减少VEGF的表达来实现. Uma等[29]在一项关于舌癌(极易在早期阶段发生颈部淋巴结转移)的研究中发现, 67%受试的肿瘤原位组织的E-FABP mRNA表达水平较转移的肿瘤组织的表达水平高4倍以上, 并且有数例转移的肿瘤组织完全检测不出 E-FABP; Brouard等[30]报道E-FABP蛋白可在全部受检的黑色素瘤Ⅰ/Ⅱ和Ⅲ级女性患者的尿液中检测出, 但在发生远处转移的Ⅳ级患者尿液中却不能检测出; Celis等[31]报道E-FABP在膀胱癌的表达水平也与分化程度呈正相关, 即E-FABP的表达水平随着膀胱癌分化程度的降低而降低. 以上这些研究结果与本研究结果一致提示, E-FABP的表达水平可能与肿瘤转移有密切的关系.

由于E-FABP是一种胞浆蛋白, 有可能分泌、游离于肿瘤患者的血清中, 因此血清中E-FABP水平的改变是否可作为肝癌或其他肿瘤的生物标志物值得进一步探讨.

总之, 本研究不仅提示E-FABP可能成为肝癌预测转移和早期诊断的新标志. 同时, 本文及其前期的相关报道所涉及的这种跨种属筛选和验证肝癌相关分子的研究策略, 或可为肿瘤的相关研究提供新的思路和线索.

4 参考文献

1 Thun MJ, DeLancey JO, Center MM, Jemal A, Ward EM. The global burden of cancer: priorities for prevention. *Carcinogenesis* 2010; 31: 100-110 [PMID: 19934210 DOI: 10.1093/carcin/bgp263]

2 El-Serag HB. Hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 2011; 365: 1118-1127 [PMID: 21992124 DOI: 10.1056/NEJMra1001683]

3 Vivarelli M, Risaliti A. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma on cirrhosis: strategies to avoid tumor recurrence. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4741-4746 [PMID: 22147974 DOI: 10.3748/wjg.v17.i43.4741]

4 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]

5 李倩, 杜佳, 关鹏, 杜君, 曲春枫, 代敏. 中国2008年肝癌发病、死亡和患病情况的估计与预测. 中华流行病学杂志 2012; 33: 554-557

6 Fang H, Tong W, Perkins R, Shi L, Hong H, Cao X, Xie Q, Yim SH, Ward JM, Pitot HC, Dragan YP. Bioinformatics approaches for cross-species liver cancer analysis based on microarray gene expression profiling. *BMC Bioinformatics* 2005; 6 Suppl 2: S6 [PMID: 16026603 DOI: 10.1186/1471-2105-6-S2-S6]

7 史俊林, 李瑗. 应用跨种属肿瘤基因筛选策略探寻肿瘤关键分子. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1255-1260

8 McIntyre RE, van der Weyden L, Adams DJ. Cancer gene discovery in the mouse. *Curr Opin Genet Dev* 2012; 22: 14-20 [PMID: 22265936 DOI: 10.1016/j.gde.2011.12.003]

9 李瑗, 苏建家, 曹骥, 欧超, 仇效坤, 杨春, 班克臣, 岳惠芬, 张丽生, 万大方, 顾健人, 韦薇, 欧胜敬. 不同因素诱发的树鼩肝癌组织的基因表达差异. 癌症 2003; 22: 1018-1022.

10 Li Y, Wan DF, Su JJ, Cao J, Ou C, Qiu XK, Ban KC, Yang C, Qin LL, Luo D, Yue HF, Zhang LS, Gu JR. Differential expression of genes during aflatoxin B(1)-induced hepatocarcinogenesis in tree shrews. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 497-504 [PMID: 14966905]

11 秦雪, 代智, 崔杰峰, 苏建家, 曹骥, 欧超, 李山, 陈晓燕, 谢丽, 王健, 岳海英, 李瑗, 刘银坤. 黄曲霉毒素B1诱发树鼩肝癌过程中的差异表达蛋白质分析及意义. 中华检验医学杂志 2006; 29: 538-542

12 Li Y, Wan D, Wei W, Su J, Cao J, Qiu X, Ou C, Ban K, Yang C, Yue H. Candidate genes responsible for human hepatocellular carcinoma identified from differentially expressed genes in hepatocarcinogenesis of the tree shrew (Tupaia belangeri chinesis). *Hepatol Res* 2008; 38: 85-95 [PMID: 17714471 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2007.00207.x]

13 Li Y, Qin X, Cui J, Dai Z, Kang X, Yue H, Zhang Y, Su J, Cao J, Ou C, Yang C, Duan X, Yue H, Liu Y. Proteome analysis of aflatoxin B1-induced hepatocarcinogenesis in tree shrew (Tupaia belangeri chinensis) and functional identification of candidate protein peroxiredoxin II. *Proteomics* 2008; 8: 1490-1501 [PMID: 18318006 DOI: 10.1002/pmic.200700229]

14 梁宏洁, 韦薇, 康晓楠, 郭坤, 曹骥, 苏建家, 杨春, 欧超, 李瑗, 刘银坤. 二乙基亚硝胺诱发大鼠肝癌过程中癌前病变阶段差异表达蛋白质的筛选. 中华肝脏病杂志 2009; 17: 669-674

15 韦薇, 梁宏洁, 崔杰锋, 郭坤, 康晓楠, 曹骥, 苏建家, 李瑗, 刘银坤. 醛酮还原酶1B1O基因沉默对MHCC97H细胞生长和基因表达的影响. 中华肝脏病杂志 2010; 18: 666-671

16 史俊林, 曹骥, 苏建家, 杨春, 欧超, 汪多平, 李瑗. 表皮型脂肪酸结合蛋白在跨种属肝癌组织中的表达. 中华肝脏病杂志 2012; 20: 270-274

17 Gambarin-Gelwan M, Wolf DC, Shapiro R, Schwartz ME, Min AD. Sensitivity of commonly available screening tests in detecting hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients undergoing liver transplantation. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 1535-1538 [PMID: 10894592 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2000.02091.x]

18 Fujii K, Kondo T, Yokoo H, Yamada T, Iwatsuki K, Hirohashi S. Proteomic study of human hepatocellular carcinoma using two-dimensional difference gel electrophoresis with saturation cysteine dye. *Proteomics* 2005; 5: 1411-1422 [PMID: 15751005 DOI: 10.1002/pmic.200401004]

19 Liu Y, Zhu X, Zhu J, Liao S, Tang Q, Liu K, Guan X, Zhang J, Feng Z. Identification of differential expression of genes in hepatocellular carcinoma by suppression subtractive hybridization combined cDNA microarray. *Oncol Rep* 2007; 18: 943-951 [PMID: 17786358]

20 刘倩, 王世凤, 徐缓, 张尚福. CRABPII和E-FABP在非小细胞肺癌中的表达及其意义. 中国肺癌杂志 2013; 16: 12-19

21 Fang LY, Wong TY, Chiang WF, Chen YL. Fatty-acid-binding protein 5 promotes cell proliferation and invasion in oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med* 2010; 39: 342-348 [PMID: 20040021 DOI: 10.1111/j.1600-0714.2009.00836.x]

22 Morgan EA, Forootan SS, Adamson J, Foster CS, Fujii H, Igarashi M, Beesley C, Smith PH, Ke Y. Expression of cutaneous fatty acid-binding protein (C-FABP) in prostate cancer: potential prognostic marker and target for tumourigenicity-suppression. *Int J Oncol* 2008; 32: 767-775 [PMID: 18360704]

23 李华, 吕青, 薛晖, 董立华, Saima Naz, 羊惠君. 表皮型脂肪酸结合蛋白和脂肪酸合成酶在乳腺浸润性导管癌的表达及临床病理意义. 南方医科大学学报 2008; 28: 381-384

24 赵亮, 刘莉, 王爽, 李祖国, 丁彦青. 采用蛋白质组学技术筛选大肠癌转移相关蛋白. 生物化学与生物物理进展 2006; 33: 485-491

25 Rauch J, Ahlemann M, Schaffrik M, Mack B, Ertongur S, Andratschke M, Zeidler R, Lang S, Gires O. Allogenic antibody-mediated identification of head and neck cancer antigens. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 323: 156-162 [PMID: 15351715 DOI: 10.1016/j.bbrc.2004.08.071]

26 Jing C, Beesley C, Foster CS, Rudland PS, Fujii H, Ono T, Chen H, Smith PH, Ke Y. Identification of the messenger RNA for human cutaneous fatty acid-binding protein as a metastasis inducer. *Cancer Res* 2000; 60: 2390-2398 [PMID: 10811115]

27 Jing C, Beesley C, Foster CS, Chen H, Rudland PS, West DC, Fujii H, Smith PH, Ke Y. Human cutaneous fatty acid-binding protein induces metastasis by up-regulating the expression of vascular endothelial growth factor gene in rat Rama 37 model cells. *Cancer Res* 2001; 61: 4357-4364 [PMID: 11389060]

28 Adamson J, Morgan EA, Beesley C, Mei Y, Foster CS, Fujii H, Rudland PS, Smith PH, Ke Y. High-level expression of cutaneous fatty acid-binding protein in prostatic carcinomas and its effect on tumorigenicity. *Oncogene* 2003; 22: 2739-2749 [PMID: 12743598 DOI: 10.1038/sj.onc.1206341]

29 Uma RS, Naresh KN, D'Cruz AK, Mulherkar R, Borges AM. Metastasis of squamous cell carcinoma of the oral tongue is associated with down-regulation of epidermal fatty acid binding protein (E-FABP). *Oral Oncol* 2007; 43: 27-32 [PMID: 16759896 DOI: 10.1016/j.oraloncology.2005.12.024]

30 Brouard MC, Saurat JH, Ghanem G, Siegenthaler G. Urinary excretion of epidermal-type fatty acid-binding protein and S100A7 protein in patients with cutaneous melanoma. *Melanoma Res* 2002; 12: 627-631 [PMID: 12459653 DOI: 10.1097/00008390-200212000-00013]

31 Celis JE, Rasmussen HH, Vorum H, Madsen P, Honoré B, Wolf H, Orntoft TF. Bladder squamous cell carcinomas express psoriasin and externalize it to the urine. *J Urol* 1996; 155: 2105-2112 [PMID: 8618345 DOI: 10.1016/S0022-5347(01)66118-4]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

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

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873

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

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

世界华人消化杂志 2013年4月18日; 21(11): 970-977
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

EGCG对阿霉素诱导的胃癌细胞MKN28衰老的影响

白 洁, 马牧原, 蔡 明, 许 飞, 陈俊华, 帅晓明, 陶凯雄

■背景资料
已有研究表明EZH2的异常表达是多种肿瘤发生发展的重要驱动因素, 而且与细胞衰老也有着密切联系.

白洁, 马牧原, 蔡明, 许飞, 陈俊华, 帅晓明, 陶凯雄, 华中科技大学同济医学院附属协和医院胃肠外科Ⅱ 湖北省武汉市 430022
白洁, 博士, 主要从事胃肠肿瘤的基础及临床研究.
湖北省自然科学基金资助项目, No. 2010CDB07706
作者贡献分布: 本课题由帅晓明与白洁设计; 研究过程由帅晓明与陶凯雄指导; 白洁、马牧原、蔡明、许飞及陈俊华共同操作完成; 论文写作、数据分析由帅晓明与白洁完成.
通讯作者: 帅晓明, 副教授, 430022, 湖北省武汉市解放大道1277号, 华中科技大学同济医学院附属协和医院胃肠外科Ⅱ. xmshuai@sina.com
收稿日期: 2013-01-28 修回日期: 2013-03-05
接受日期: 2013-03-29 在线出版日期: 2013-04-18

Treatment with EGCG promotes doxorubicin-induced cell senescence in gastric cancer cell line MKN28

Jie Bai, Mu-Yuan Ma, Ming Cai, Fei Xu, Jun-Hua Chen, Xiao-Ming Shuai, Kai-Xiong Tao

Jie Bai, Mu-Yuan Ma, Ming Cai, Fei Xu, Jun-Hua Chen, Xiao-Ming Shuai, Kai-Xiong Tao, Department of Gastrointestinal Surgery (Division II), Wuhan Union Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China
Supported by: the Natural Science Foundation of Hubei Province, No. 2010CDB07706
Correspondence to: Xiao-Ming Shuai, Associate Professor, Wuhan Union Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, 1277 Jiefang Dadao, Wuhan 430022, Hubei Province, China. xmshuai@sina.com
Received: 2013-01-28 **Revised:** 2013-03-05
Accepted: 2013-03-29 **Published online:** 2013-04-18

Abstract

AIM: To investigate the effect of treatment with (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) on EZH2 expression and doxorubicin-induced cell senescence in gastric cancer cell line MKN28.

METHODS: MKN28 cells were treated with EGCG in the presence or absence of doxorubicin. Protein expression of EZH2 was detected by Western blot. Doxorubicin-induced senescence of MKN28 cells was analyzed by senescence-associated β-galactosidase (SA-β-gal) staining. The formation of senescence-associated heterochromatic foci (SAHF) was measured by laser confocal microscopy. Cell cycle progression and cell proliferation of treated MKN28 cells were measured by flow cytometry and MTT assay, respectively.

RESULTS: EGCG effectively suppressed the expression of EZH2 protein and promoted doxorubicin-induced cell senescence and formation of SAHF in MKN28 cells. In the EGCG + doxorubicin group, the percentages of cells positive for SA-β-gal and SAHF formation proportion were increased more significantly than those in the doxorubicin group and EGCG group (72.16% ± 4.03% *vs* 34.42% ± 7.06%, 15.40% ± 1.70%; 86.44% ± 4.33% *vs* 47.73% ± 3.03%, 80.28% ± 1.24%). In EGCG-treated MKN28 cells, the proportion of cells in G_0/G_1 phase and reduced rate of cell proliferation increased with the increase in the concentration of EGCG, and this effect was more notable in the presence of doxorubicin.

CONCLUSION: EGCG can effectively suppress the expression of EZH2 and therefore promote doxorubicin-induced cell senescence in MKN28 cells.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: EGCG; EZH2; Cell senescence; MKN28 cells; Doxorubicin

Bai J, Ma MY, Cai M, Xu F, Chen JH, Shuai XM, Tao KX. Treatment with EGCG promotes doxorubicin-induced cell senescence in gastric cancer cell line MKN28. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(11): 970-977 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/970.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i11.970

摘要

目的: 观察表没食子儿茶素没食子酸酯[(-)-epigallocatechin-3-gallate, EGCG)]对阿霉素诱导的胃癌细胞MKN28衰老的影响.

方法: Western blot检测EGCG对EZH2蛋白表达的影响; 阿霉素诱导经EGCG处理的MKN28细胞衰老, 衰老相关-β-半乳糖苷酶

■同行评议者
陈光, 教授, 吉林大学第一医院消化器官外科; 张小晋, 主任医师, 北京积水潭医院

(senescence associated-β-galactosidase, SA-β-gal)染色检测各组细胞衰老情况, 激光共聚焦显微镜检测各组细胞核中衰老相关异染色质灶(senescence-associated heterochromatic foci, SAHF)的形成; 噻唑蓝比色法(MTT)和流式细胞术检测EGCG对MKN28细胞生长和周期的影响, 并比较在阿霉素诱导下各组细胞的相应变化.

结果: EGCG可明显抑制EZH2蛋白表达, 经EGCG处理的MKN28细胞在阿霉素诱导下SA-β-gal染色阳性率和SAHF形成比例明显高于阿霉素组和EGCG组,分别为72.16%±4.03%、34.42%±7.06%、15.40%±1.70%和86.44%±4.33%、47.73%±3.03%、80.28%±1.24%; 与空白对照组相比, 经不同浓度EGCG处理的MKN28细胞其周期G_0/G_1比例以及生长抑制率会随浓度的增高而增大(P<0.05), 在阿霉素的诱导下此趋势更为明显.

结论: EGCG可通过抑制EZH2表达来促进阿霉素对MKN28细胞的衰老诱导作用.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 表没食子儿茶素没食子酸酯; EZH2; 细胞衰老; MKN28细胞; 阿霉素

核心提示: 表没食子儿茶素没食子酸酯[(-)-epigallocatechin-3-gallate, EGCG]可显著降低胃癌MKN28细胞系中EHZ2蛋白的表达水平, 从而促进阿霉素对胃癌细胞的衰老诱导作用, 可延长胃癌细胞周期并抑制其生长, 诱导其出现衰老相关特征. 通过探讨EGCG与EZH2的关系及其对胃癌细胞系MKN28衰老的作用, 为胃癌的临床治疗提供新的思路.

白洁, 马牧原, 蔡明, 许飞, 陈俊华, 帅晓明, 陶凯雄. EGCG对阿霉素诱导的胃癌细胞MKN28衰老的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(11): 970-977 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/970.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i11.970

0 引言

肿瘤细胞在一定条件下可被诱导进入衰老状态, 诱导肿瘤细胞衰老是一种可行的抗肿瘤治疗策略. EZH2(enhancer of zeste homolog 2)属于PcG(polycomb group)基因家族, 催化核小体组蛋白H3第27位赖氨酸三甲基化, 参与细胞的表观遗传学调控, 与细胞衰老有着密切联系[1-3]. 胃癌中EZH2的表达增加, 与肿瘤分期及不良预后关系密切[4]. 表没食子儿茶素没食子酸酯[(-)-epigallocatechin-3-gallate, EGCG]是绿茶多酚的主要活性成分, 他可明显降低PcG基因家族的多种蛋白表达, 并抑制组蛋白H3第27位赖氨酸的三甲基化[5,6]. 本研究使用EGCG处理胃癌MKN28细胞系, 检测其对EHZ2蛋白表达的影响; 观察EGCG对阿霉素诱导的胃癌细胞衰老的影响, 以及对胃癌细胞周期及生长的影响, 探讨EGCG与EZH2的关系及其对胃癌细胞系MKN28衰老的作用, 以寻找新的胃癌治疗靶点.

■研发前沿
胃癌组织中存在EZH2的高表达, 与肿瘤大小、侵犯深度、血管侵犯、淋巴结转移、临床分期和预后直接相关. 而抑制胃癌细胞系中EZH2表达是否可诱导胃癌细胞衰老, 目前尚未有人报道.

1 材料和方法

1.1 材料 胎牛血清、RPMI 1640培养基购自Hyclone公司; EGCG、MTT和PI购自sigma公司; 阿霉素购自Pfizer公司; EZH2、GAPDH抗体和β-半乳糖苷酶(SA-β-gal)染色试剂盒购自Cell Signaling公司; 辣根过氧化物酶标记的羊抗兔二抗购自武汉博士德公司; DAPI购自Roche公司.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: 人胃癌细胞株MKN28由华中科技大学附属协和医院腹腔镜实验室保存. 用含10%胎牛血清的RPMI 1640培养基, 在37 ℃、5%CO_2的饱和湿度培养箱内培养.

1.2.2 Western blot检测EZH2蛋白表达: 分别使用10、50、100 μmol/L EGCG处理MKN28细胞, 48 h后提取蛋白. 取30 μg蛋白经6%SDS-PAGE分离, 电泳后转膜, 加入1∶1 000稀释的EZH2一抗4 ℃孵育过夜, 内参照选用GAPDH, 二抗室温孵育1 h, 洗膜后ECL显影, 重复3次实验, 选取适宜EGCG浓度行后续实验.

1.2.3 阿霉素诱导MKN28细胞衰老: 分别使用不同浓度(100、50、25、10 μmol/L)阿霉素处理MKN28细胞, 2 h后换为完全培养基, 继续培养48 h, 在pH 6.0的条件下, 按SA-β-gal染色试剂盒说明书操作, 倒置显微镜下计数衰老细胞, 计算衰老染色率. 选择衰老诱导效果最好的阿霉素浓度行后续实验.

1.2.4 SA-β-gal染色检测细胞衰老: 向经EGCG处理48 h后的细胞加入阿霉素, 2 h后换为完全培养基, 继续培养48 h, 作为EGCG+阿霉素组, 同时设立阿霉素组、EGCG组以及空白对照组, 行SA-β-gal染色, 计算衰老染色率.

1.2.5 激光共聚焦显微镜观察细胞核中SAHF形成: 按上述方法分组并处理细胞, 4%多聚甲醛室温固定15 min, PBS适当洗涤后加入DAPI染色液避光室温孵育15 min, 在激光共聚焦显微镜下观

■相关报道
在多种肿瘤中, 通过转染EZH2-siRNA和使用特异性抑制剂的方法降低EZH2表达能有效抑制细胞增殖并减少肿瘤的形成, 而高表达EZH2可使鼠胚胎成纤维细胞逃逸衰老, 并使鼠造血干细胞保持长期的再生能力, 防止其耗竭; 在对人皮肤鳞状细胞癌细胞株的研究中发现, EGCG可增加EZH2和Bmi-1泛素化水平, 导致二者蛋白被蛋白酶体降解, 从而降低二者的表达水平.

察, 计数SAHF阳性细胞, 计算阳性比率.

1.2.6 流式细胞仪检测细胞周期: 分别使用不同浓度(10、30、50、70 μmol/L)EGCG处理MKN28细胞48 h作为不同浓度EGCG组, 同时设立空白对照组, 75%乙醇4 ℃固定过夜, 次日离心收集细胞, 4 ℃预冷的PBS洗涤2遍, 每组加入0.5 mL浓度为100 μg/mL的PI溶液, 4 ℃避光孵育30 min, 上机检测细胞周期.

按上述方法分组并处理细胞, 48 h后加入25 μmol/L阿霉素, 2 h后换为完全培养液, 继续培养48 h后收集细胞, 作为EGCG+阿霉素组, 同时设立阿霉素组以及空白对照组, 后续操作如前. 用Modfit LT™软件进行结果分析.

1.2.7 MTT比色法检测细胞增殖: 按1×10^{4}个/孔的细胞密度接种96孔板, 分别使用不同浓度(10、50、100、150、200 μmol/L)EGCG干预MKN28细胞, 每组设置6个复孔, 分别培养24、48、72 h, 同时设立空白对照组. 每孔加入MTT溶液(5 mg/mL)20 μL, 培养4 h后每孔加入150 μL DMSO, 摇床震荡10 min. 在490 nm波长下用酶联免疫检测仪测定每板各孔吸光度值. 计算细胞增殖抑制率.

按上述方法种板, 分别使用不同浓度(10、30、50、70、100 μmol/L)EGCG处理MKN28细胞48 h后加入阿霉素, 2 h后换以完全培养液, 继续培养48 h, 同时设立阿霉素组以及空白对照组, 后续操作如前.

统计学处理 所有的实验均重复3次, 所有数据均以mean±SD表示, 多组间均数的比较使用单因素方差分析(one-way ANOVA test, SPSS软件12.0)进行统计分析. 以P<0.05为有统计学差异.

2 结果

2.1 EGCG能够有效抑制EZH2的蛋白表达 分别使用10、50、100 μmol/L EGCG处理MKN28细胞, 48 h后使用Western blot检测EZH2的蛋白水平. 结果显示50、100 μmol/L EGCG均能显著抑制细胞中EZH2的蛋白表达水平, 但以50 μmol/L最为适宜(图1). 遂选取50 μmol/L作为后续实验的EGCG浓度.

2.2 EGCG促进阿霉素诱导的MKN28细胞衰老 实验中25 μmol/L阿霉素组的SA-β-gal染色阳性率高于其他各组(图2), 遂后续实验采用25 μmol/L阿霉素诱导衰老. MKN28细胞经50 μmol/L EGCG处理后再经阿霉素诱导, 其SA-β-gal阳性率显著高于阿霉素组和EGCG组, 分别

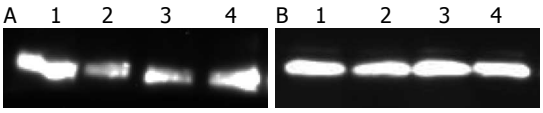


图 1 不同浓度EGCG对EZH2蛋白表达的影响. A: EGCG; B: GAPDH; 1: 10 μmol/L组; 2: 50 μmol/L组; 3: 100 μmol/L组; 4: 空白对照组.

为72.16%±4.03%、34.42%±7.06%和15.40%±1.70%(P<0.05), 而正常细胞的染色率为4.50%±2.07%, 结果提示EGCG能促进阿霉素诱导的MKN28细胞衰老(图3, 4).

2.3 EGCG促进阿霉素诱导MKN28细胞衰老时SAHF的形成 DAPI染色后激光共聚焦显微镜观察显示, EGCG+阿霉素组、阿霉素组和EGCG组的细胞核中均显示有DNA点状聚集异染色质灶形成, 但前者的数量明显多于后两者, 分别为86.44%±4.33%、47.73%±3.03%和80.28%±1.24%(P<0.05), 正常组为9.65%±1.85%. 结果提示EGCG能促进阿霉素诱导的MKN28细胞衰老, 并促进形成特征性的SAHF(图5, 6).

2.4 EGCG对MKN28细胞周期和生长的影响 EGCG处理MKN28细胞48 h后G_0/G_1期比例均明显高于与空白对照组, 且呈剂量效应关系, 分别为10 μmol/L: 45.92%±0.83%; 30 μmol/L: 47.73%±0.70%; 50 μmol/L: 53.24%±0.54%; 70 μmol/L: 61.60%±0.69%; 空白对照组: 40.94%±1.59%(P<0.05). 与空白对照组相比, 各EGCG组的S期比例均显著降低, G_2/M期比例均显著上升(图7).

EGCG对MKN28细胞增殖有显著的抑制作用, 在不同浓度、不同作用时间下, 各处理组的吸光度平均值和空白对照组相比均有统计学差异(P<0.05), 随着作用时间的延长, 抑制作用愈加明显(图8).

2.5 EGCG促进阿霉素的细胞周期停滞和抗增殖作用 与阿霉素组相比, 除10 μmol/L EGCG+阿霉素组之外, 其他各组细胞周期均明显停滞于G_0/G_1期, 并呈剂量-效应依赖关系, 分别为30 μmol/L+阿霉素组: 49.87%±0.35%; 50 μmol/L+阿霉素组: 54.60%±1.07%; 70 μmol/L+阿霉素组: 56.33%±0.90%; 阿霉素组: 44.45%±1.01%(P<0.05). 提示EGCG促进了阿霉素诱导的MKN28细胞周期停滞, G_0/G_1期比例进一步增加(图9).

MTT结果显示各EGCG+阿霉素组MKN28细胞的抑制率均高于阿霉素组, 且随着浓度的

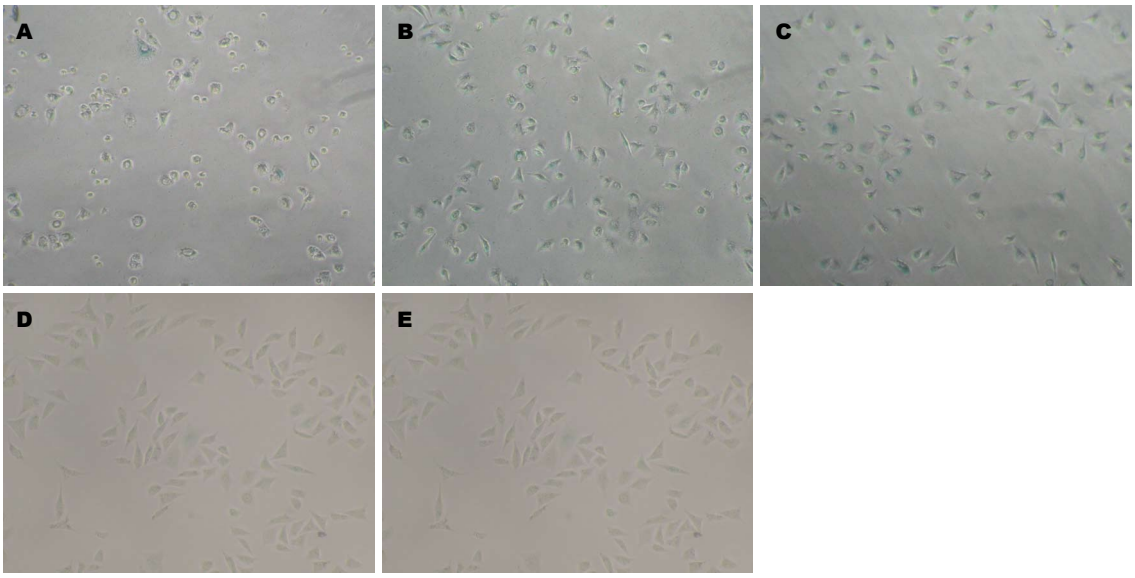


图 2 不同浓度阿霉素对MKN28细胞衰老的影响. A: 100 μmol/L组; B: 50 μmol/L组; C: 25 μmol/L组; D: 10 μmol/L组; E: 空白对照组.

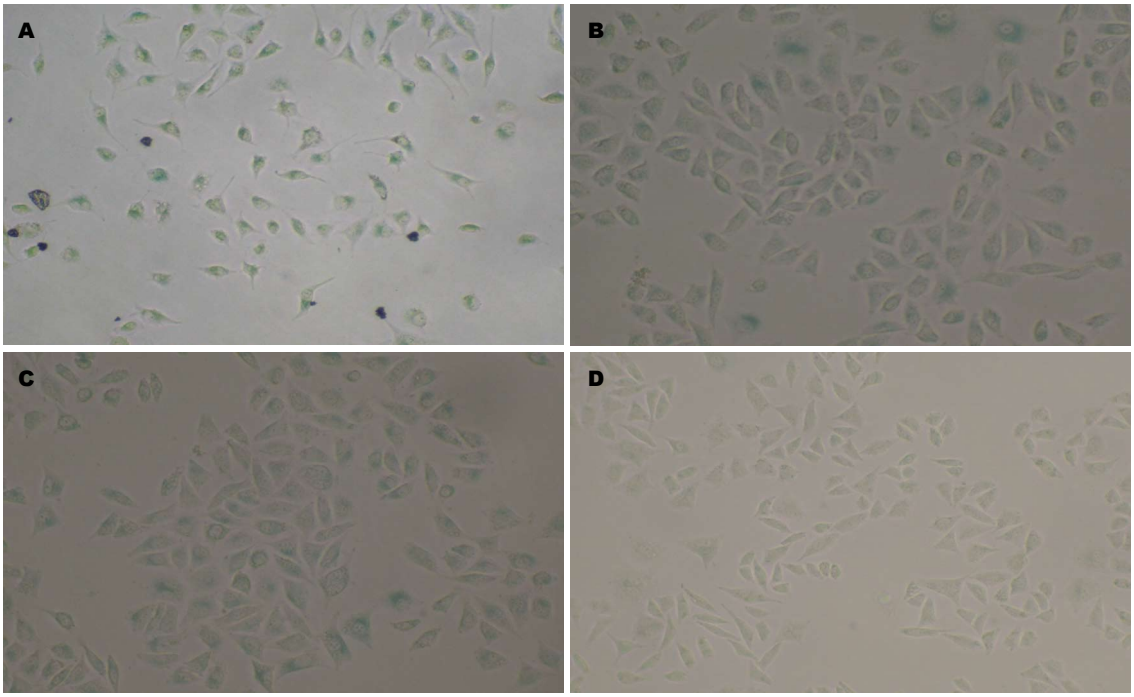


图 3 EGCG对阿霉素诱导下MKN28细胞衰老的影响. A: EGCG+阿霉素组; B: EGCG组; C: 阿霉素组; D: 空白对照组.

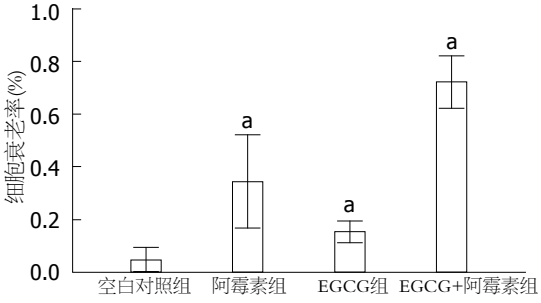


图 4 阿霉素诱导下EGCG对MKN28细胞中β-半乳糖苷酶形成的影响. $^{a}P<0.05$ *vs*空白对照组.

■创新盘点

本文通过EGCG特异性抑制EZH2表达, 研究胃癌细胞系中EZH2对细胞衰老的影响以及对阿霉素诱导细胞衰老的促进作用, 为胃癌的临床治疗提供新的思路.

增加, 抑制作用愈加明显(图10), 说明EGCG促进了阿霉素对MKN28细胞的增殖抑制作用.

3 讨论

衰老是细胞脱离细胞周期并不可逆地丧失增殖能力后进入的一种相对稳定状态, 其具有特定的生物学特征, 表现为细胞周期停滞在G_0/G_1期, 细胞生长出现不可逆的停止, 细胞表型改变, 表达衰老相关SA-β-gal, 以及细胞核中出现SAHF等[7,8]. 肿瘤细胞在一定条件下, 如遗传学操作、

■应用要点

本文通过研究EZH2与胃癌细胞系衰老之间的关系，为临床将EZH2作为靶点，协同阿霉素诱导胃癌细胞衰老，从而治疗胃癌提供新的理论基础.

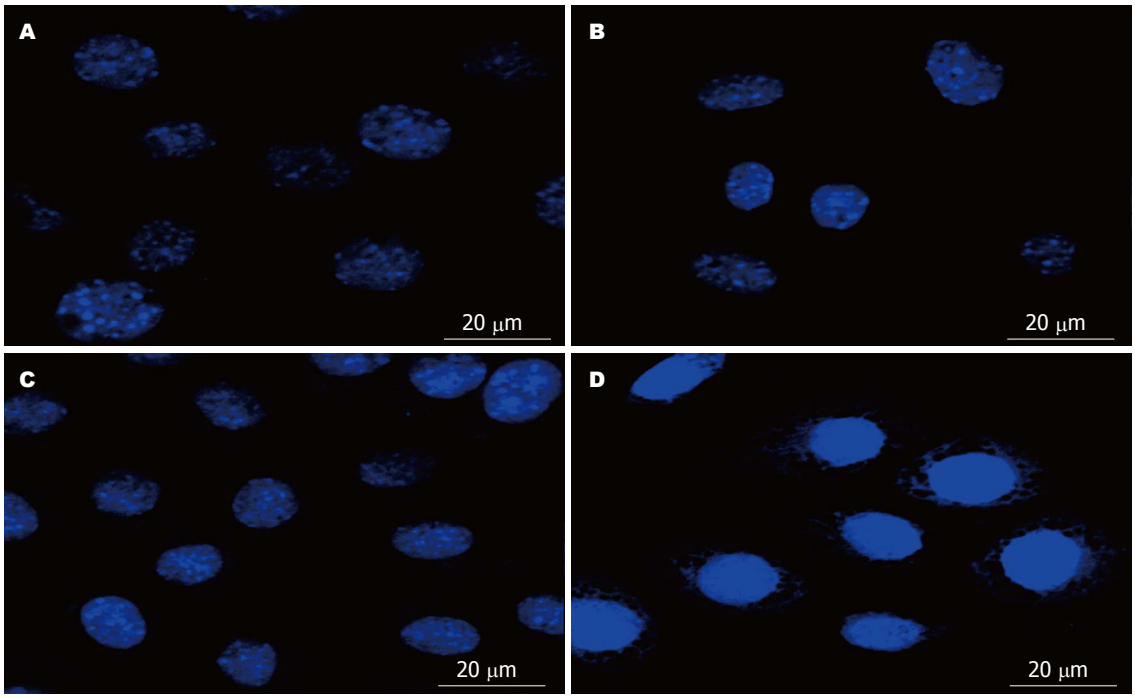


图 5 激光共聚焦显微镜观察MKN28细胞核中SAHF的形成. A: EGCG+阿霉素组; B: EGCG组; C: 阿霉素组; D: 空白对照组.

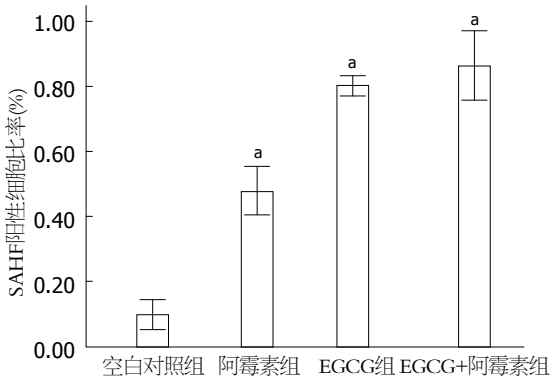


图 6 EGCG对阿霉素诱导MKN28细胞衰老时SAHF形成的影响. $^{a}P<0.05$ *vs*空白对照组.

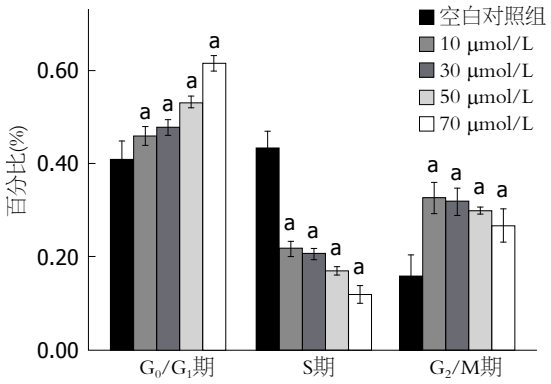


图 7 EGCG对MKN28细胞周期的影响. $^{a}P<0.05$ *vs*空白对照组.

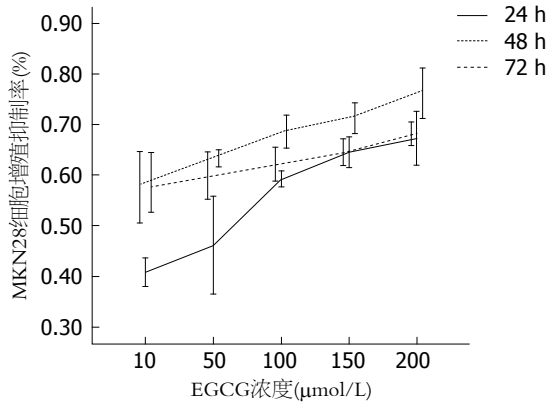


图 8 EGCG对MKN28细胞生长的影响.

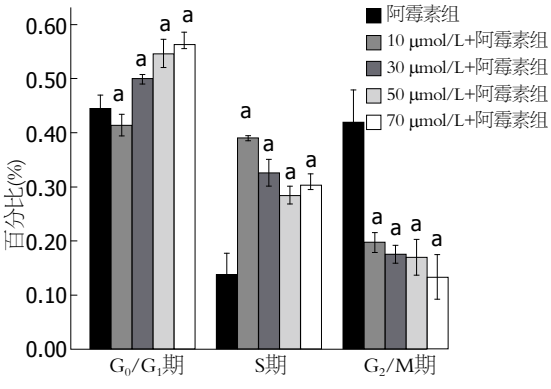


图 9 EGCG对阿霉素诱导下MKN28细胞周期的影响. $^{a}P<0.05$ *vs*阿霉素组.

化疗药物、辐射等也可被诱导衰老，同样会出现上述改变[9]. 研究发现化疗药物诱导荷瘤小鼠肿瘤细胞衰老后，衰老细胞比例与预后密切相关[10]. 同样在小鼠肿瘤模型中，通过活化原癌基

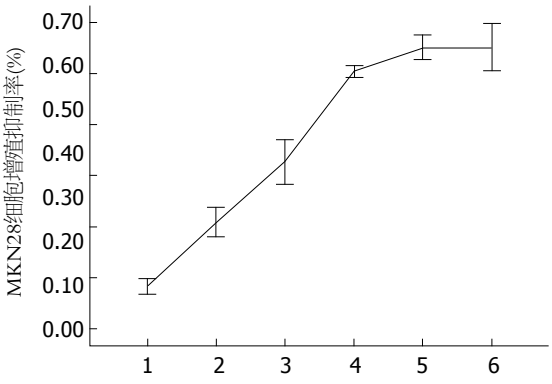


图 10 EGCG对阿霉素诱导下MKN28细胞生长的影响. 1: 阿霉素组; 2: 10 μmol/L组+阿霉素组; 3: 30 μmol/L组+阿霉素组; 4: 50 μmol/L组+阿霉素组; 5: 70 μmol/L组+阿霉素组; 6: 100 μmol/L组+阿霉素组.

因而诱导衰老的肝癌细胞可向外界释放多种细胞因子, 如白介素-1α(interleukin-1α, IL-1α)、瘦蛋白、MCP1和RANTES, 而且衰老细胞还可活化$CD4^+$ T细胞介导的免疫应答，从而清除肿瘤细胞, 这种清除肿瘤细胞的机制被称为“衰老监督”(senescence surveilance)[11]. 这些鼓舞人心的结果为衰老成为继诱导细胞凋亡策略后的新策略提供了有力证据.

EZH2是果蝇*zeste*基因增强子的人类同源物, 属于PcG基因家族. PcG家族包括PRC1和PRC2两种复合体, 分别起着维持基因抑制状态和启动基因沉默程序的作用[12]. EZH2与EED、SUZ12共同构成PRC2复合物, 通过组蛋白甲基转移酶中高度保守的SET区域催化组蛋白H3第9位和第27位赖氨酸三甲基化, 从而抑制转录, 在染色体水平调节基因活性[1]. EZH2的异常表达是肿瘤发生发展的重要驱动元素, 近期有研究显示乳腺癌中EZH2不仅参与肿瘤干细胞的形成, 还能扩增恶性肿瘤干细胞的数量, 从而促进肿瘤的发展进程[13]. 在多种肿瘤中, 人们都发现通过转染EZH2-siRNA和使用特异性抑制剂的方法降低EZH2表达能有效抑制细胞增殖并减少肿瘤的形成[14]. 此外, EZH2与细胞衰老有着密切联系. 高表达EZH2可使鼠胚胎成纤维细胞逃逸衰老, 并使鼠造血干细胞长期保持再生能力, 防止其耗竭[3]. 在早衰性疾病hutchinson-gilford progeria综合征患者的皮肤成纤维细胞中发现了全基因组范围内H3K27me3水平的下降, 可能与EZH2的表达下调有关[15].

EGCG作为绿茶多酚的主要活性成分已被证实对卵巢癌、乳腺癌、结肠癌和宫颈癌等多种肿瘤有增殖抑制作用[16-19]. 此外, 其还可提高宫颈癌及艾式腹水肿瘤对化疗药物的敏感性[20,21], 促进人正常上皮角化细胞的分化[22], 并通过PcG复合物影响皮肤肿瘤细胞的生长[5]. 过去的研究大多着重于EGCG对PRC1中Bmi-1的影响, 对EZH2的关注较少, 但PRC1复合体与染色体的结合依赖PRC2对染色体组蛋白的催化作用[23], 本实验将实验重点放在EZH2, 探讨了EGCG通过抑制EZH2表达对阿霉素诱导胃癌细胞MKN28衰老的影响.

在预实验中我们发现50 μmol/L EGCG能有效抑制EZH2蛋白的表达, 25 μmol/L低浓度阿霉素能有效诱导MKN28细胞衰老, 故选用上述浓度试剂进行实验. 结果显示EGCG+阿霉素组SA-β-gal染色阳性细胞比例及胞核中SAHF形成数量均明显高于阿霉素组、EGCG组和空白对照组. 此外, EGCG能有效阻滞细胞周期于G_0/G_1期、抑制细胞增殖、促进阿霉素的细胞周期阻滞和抗增殖效应. 以上结果表明, EGCG能通过抑制EZH2表达, 促进低剂量阿霉素诱导的胃癌MKN28细胞衰老.

在对人皮肤鳞状细胞癌细胞株的研究中发现, EGCG可增加EZH2和Bmi-1泛素化水平, 导致二者蛋白被蛋白酶体降解[6], 而胃癌细胞株中EGCG抑制EZH2的机制是否也与蛋白酶体有密切的联系, 其过程是否依赖于泛素化还是有其他机制作用其中, 有待于我们的深入研究.

p53/p21和p16/pRB途径是影响细胞衰老两条重要通路, 衰老细胞中EZH2表达下调, 同时H3K27me3水平下降并解除BMI1对p16的抑制作用[24], 也可通过去除CDKN1A转录起始位点及下游区域的组蛋白去乙酰酶, 使其乙酰化从而目击RNA聚合酶Ⅱ, 活化p21/CDKN1A[25]. 除此之外, EZH2还能募集DNA甲基转移酶到靶基因启动子(如MYT1), 直接控制DNA甲基化[26], 而启动子甲基化是其表达调控的重要机制. EGCG对EZH2表达的抑制作用是否可以通过影响上述一条或两条通路来影响周期进程和细胞衰老也是我们下一步研究需要解决的问题.

现已在乳腺癌、前列腺癌等多种肿瘤中发现了EZH2高表达, 其高表达与肿瘤的高侵袭性亚群相关[27]. 在55.6%-60.6%的胃癌组织中有EZH2高表达, 其表达与肿瘤大小、侵犯深度、血管侵犯、淋巴结转移、临床分期直接相关, EZH2高表达的患者预后差[28]. 而EGCG作为绿茶中的茶多酚, 其天然属性对其获取、加工乃至后期的临床应用都有着得天独厚的优势, 其

■同行评价

本文创新性强, 实验设计科学、合理, 对胃癌化疗的研究有一定的参考价值, 在研究方法上可以为胃肠肿瘤的治疗提供一些借鉴, 较好地反映我国及国际胃肠病学临床和基础研究的先进水平.

对EZH2表达的抑制作用可能有益于多种肿瘤的治疗. 化疗是临床广泛应用的治疗手段, 高浓度化疗药物可以诱导肿瘤细胞发生凋亡或坏死, 而低浓度化疗药物可以诱导肿瘤细胞衰老, 如果临床中采取诱导肿瘤衰老的策略, 会大幅度降低药物的不良反应. 此外, 肿瘤对化疗药物诱导的细胞凋亡容易产生耐药性, 而相比之下, 肿瘤细胞则难以对化疗药物诱导的细胞衰老产生耐药性[29]. 本实验结果显示单用阿霉素诱导衰老的效率有限, 而将EGCG与小剂量阿霉素联合应用, 明显促进了胃癌细胞MKN28衰老进程, 这就为将来的肿瘤治疗提供了一个不良反应小, 衰老诱导效率高的治疗途径.

4 参考文献

1 Simon JA, Lange CA. Roles of the EZH2 histone methyltransferase in cancer epigenetics. *Mutat Res* 2008; 647: 21-29 [PMID: 18723033 DOI: 10.1016/j.mrfmmm.2008.07.010]

2 Shumaker DK, Dechat T, Kohlmaier A, Adam SA, Bozovsky MR, Erdos MR, Eriksson M, Goldman AE, Khuon S, Collins FS, Jenuwein T, Goldman RD. Mutant nuclear lamin A leads to progressive alterations of epigenetic control in premature aging. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 8703-8708 [PMID: 16738054 DOI: 10.1073/pnas.0602569103]

3 Kamminga LM, Bystrykh LV, de Boer A, Houwer S, Douma J, Weersing E, Dontje B, de Haan G. The Polycomb group gene Ezh2 prevents hematopoietic stem cell exhaustion. *Blood* 2006; 107: 2170-2179 [PMID: 16293602 DOI: 10.1182/blood-2005-09-3585]

4 Choi JH, Song YS, Yoon JS, Song KW, Lee YY. Enhancer of zeste homolog 2 expression is associated with tumor cell proliferation and metastasis in gastric cancer. *APMIS* 2010; 118: 196-202 [PMID: 20132185 DOI: 10.1111/j.1600-0463.2009.02579.x]

5 Balasubramanian S, Adhikary G, Eckert RL. The Bmi-1 polycomb protein antagonizes the (-)-epigallocatechin-3-gallate-dependent suppression of skin cancer cell survival. *Carcinogenesis* 2010; 31: 496-503 [PMID: 20015867 DOI: 10.1093/carcin/bgp314]

6 Choudhury SR, Balasubramanian S, Chew YC, Han B, Marquez VE, Eckert RL. (-)-Epigallocatechin-3-gallate and DZNep reduce polycomb protein level via a proteasome-dependent mechanism in skin cancer cells. *Carcinogenesis* 2011; 32: 1525-1532 [PMID: 21798853 DOI: 10.1093/carcin/bgr171]

7 Ben-Porath I, Weinberg RA. The signals and pathways activating cellular senescence. *Int J Biochem Cell Biol* 2005; 37: 961-976 [PMID: 15743671 DOI: 10.1016/j.biocel.2004.10.013]

8 Narita M, Nũnez S, Heard E, Narita M, Lin AW, Hearn SA, Spector DL, Hannon GJ, Lowe SW. Rb-mediated heterochromatin formation and silencing of E2F target genes during cellular senescence. *Cell* 2003; 113: 703-716 [PMID: 12809602 DOI: 10.1016/S0092-8674(03)00401-X]

9 Roninson IB. Tumor cell senescence in cancer treatment. *Cancer Res* 2003; 63: 2705-2715 [PMID: 12782571]

10 Nardella C, Clohessy JG, Alimonti A, Pandolfi PP. Pro-senescence therapy for cancer treatment. *Nat Rev Cancer* 2011; 11: 503-511 [PMID: 21701512 DOI: 10.1038/nrc3057]

11 Kang TW, Yevsa T, Woller N, Hoenicke L, Wuestefeld T, Dauch D, Hohmeyer A, Gereke M, Rudalska R, Potapova A, Iken M, Vucur M, Weiss S, Heikenwalder M, Khan S, Gil J, Bruder D, Manns M, Schirmacher P, Tacke F, Ott M, Luedde T, Longerich T, Kubicka S, Zender L. Senescence surveillance of pre-malignant hepatocytes limits liver cancer development. *Nature* 2011; 479: 547-551 [PMID: 22080947 DOI: 10.1038/nature10599]

12 Lund AH, van Lohuizen M. Polycomb complexes and silencing mechanisms. *Curr Opin Cell Biol* 2004; 16: 239-246 [PMID: 15145347 DOI: 10.1016/j.ceb.2004.03.010]

13 Chang CJ, Yang JY, Xia W, Chen CT, Xie X, Chao CH, Woodward WA, Hsu JM, Hortobagyi GN, Hung MC. EZH2 promotes expansion of breast tumor initiating cells through activation of RAF1-β-catenin signaling. *Cancer Cell* 2011; 19: 86-100 [PMID: 21215703 DOI: 10.1016/j.ccr.2010.10.035]

14 Piunti A, Pasini D. Epigenetic factors in cancer development: polycomb group proteins. *Future Oncol* 2011; 7: 57-75 [PMID: 21174538 DOI: 10.2217/fon.10.157]

15 McCord RP, Nazario-Toole A, Zhang H, Chines PS, Zhan Y, Erdos MR, Collins FS, Dekker J, Cao K. Correlated alterations in genome organization, histone methylation, and DNA-lamin A/C interactions in Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Genome Res* 2013; 23: 260-269 [PMID: 23152449 DOI: 10.1101/gr.138032.112]

16 Spinella F, Rosanò L, Di Castro V, Decandia S, Albini A, Nicotra MR, Natali PG, Bagnato A. Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate inhibits the endothelin axis and downstream signaling pathways in ovarian carcinoma. *Mol Cancer Ther* 2006; 5: 1483-1492 [PMID: 16818507]

17 Tang Y, Zhao DY, Elliott S, Zhao W, Curiel TJ, Beckman BS, Burow ME. Epigallocatechin-3 gallate induces growth inhibition and apoptosis in human breast cancer cells through survivin suppression. *Int J Oncol* 2007; 31: 705-711 [PMID: 17786300]

18 Du GJ, Zhang Z, Wen XD, Yu C, Calway T, Yuan CS, Wang CZ. Epigallocatechin Gallate (EGCG) is the most effective cancer chemopreventive polyphenol in green tea. *Nutrients* 2012; 4: 1679-1691 [PMID: 23201840 DOI: 10.3390/nu4111679]

19 Sharma C, Nusri Qel-A, Begum S, Javed E, Rizvi TA, Hussain A. (-)-Epigallocatechin-3-gallate induces apoptosis and inhibits invasion and migration of human cervical cancer cells. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 4815-4822 [PMID: 23167425]

20 Singh M, Bhui K, Singh R, Shukla Y. Tea polyphenols enhance cisplatin chemosensitivity in cervical cancer cells via induction of apoptosis. *Life Sci* 2013 Feb 9. *[Epub ahead of print]* [PMID: 23399702 DOI: 10.1016/j.lfs.2013.02.001]

21 Ray L, Kumar P, Gupta KC. The activity against Ehrlich's ascites tumors of doxorubicin contained in self assembled, cell receptor targeted nanoparticle with simultaneous oral delivery of the green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate. *Biomaterials* 2013; 34: 3064-3076 [PMID: 23357370 DOI: 10.1016/j.biomaterials.2012.12.044]

22 Balasubramanian S, Eckert RL. Green tea polyphe-

nol and curcumin inversely regulate human involucrin promoter activity via opposing effects on CCAAT/enhancer-binding protein function. *J Biol Chem* 2004; 279: 24007-24014 [PMID: 15044435 DOI: 10.1074/jbc.M314331200]
23 Hernández-Muñoz I, Taghavi P, Kuijl C, Neefjes J, van Lohuizen M. Association of BMI1 with polycomb bodies is dynamic and requires PRC2/EZH2 and the maintenance DNA methyltransferase DNMT1. *Mol Cell Biol* 2005; 25: 11047-11058 [PMID: 16314526 DOI: 10.1128/MCB.25.24.11047-11058.2005]
24 Agherbi H, Gaussmann-Wenger A, Verthuy C, Chasson L, Serrano M, Djabali M. Polycomb mediated epigenetic silencing and replication timing at the INK4a/ARF locus during senescence. *PLoS One* 2009; 4: e5622 [PMID: 19462008 DOI: 10.1371/journal.pone.0005622]
25 Fan T, Jiang S, Chung N, Alikhan A, Ni C, Lee CC, Hornyak TJ. EZH2-dependent suppression of a cellular senescence phenotype in melanoma cells by inhibition of p21/CDKN1A expression. *Mol Cancer Res* 2011; 9: 418-429 [PMID: 21383005]
26 Lanigan F, Geraghty JG, Bracken AP. Transcriptional regulation of cellular senescence. *Oncogene* 2011; 30: 2901-2911 [PMID: 21383691 DOI: 10.1038/onc.2011.34]
27 Bachmann IM, Halvorsen OJ, Collett K, Stefansson IM, Straume O, Haukaas SA, Salvesen HB, Otte AP, Akslen LA. EZH2 expression is associated with high proliferation rate and aggressive tumor subgroups in cutaneous melanoma and cancers of the endometrium, prostate, and breast. *J Clin Oncol* 2006; 24: 268-273 [PMID: 16330673 DOI: 10.1200/JCO.2005.01.5180]
28 Matsukawa Y, Semba S, Kato H, Ito A, Yanagihara K, Yokozaki H. Expression of the enhancer of zeste homolog 2 is correlated with poor prognosis in human gastric cancer. *Cancer Sci* 2006; 97: 484-491 [PMID: 16734726 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2006.00203.x]
29 Gordon RR, Nelson PS. Cellular senescence and cancer chemotherapy resistance. *Drug Resist Updat* 2012; 15: 123-131 [PMID: 22365330 DOI: 10.1016/j.drup.2012.01.002]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

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

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775

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

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

世界华人消化杂志 2013年4月18日; 21(11): 978-983
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

胰泌素增强磁共振胰胆管造影对健康成人胰腺外分泌功能的影响

边 云, 王 莉, 陆建平, 武 群, 陈士跃, 常 乐, 谢丽娜

■背景资料
胰腺外分泌功能评价一直很困难. 有创的直接胰腺功能试验, 因其侵入性临床已基本停用, 无创的间接胰腺外分泌功能检查对轻中度胰腺功能下降评估可信度不够, 目前急需一种简单易行且能准确评价胰腺外分泌功能的检查方法. 胰泌素刺激-磁共振胰胆管成像结合了直接测量法和间接测量法的优点越来越受到临床的重视.

边云, 王莉, 陆建平, 武群, 陈士跃, 常乐, 谢丽娜, 中国人民解放军第二军医大学长海医院医学影像科 上海市 200434
边云, 中国人民解放军第411医院医学影像科 上海市 200081
边云, 在读硕士, 主治医师, 主要从事腹部影像诊断的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81070371
作者贡献分布: 此课题由王莉教授设计, 研究过程由边云、武群、陈士跃、常乐及谢丽娜完成, 本论文写作由边云完成, 王莉与陆建平审核.
通讯作者: 王莉, 200434, 上海市长海路168号, 中国人民解放军第二军医大学长海医院医学影像科.
wangli_changhai@163.com
电话: 021-31162147
收稿日期: 2013-01-26 修回日期: 2013-03-13
接受日期: 2013-03-29 在线出版日期: 2013-04-18

Quantitative analysis of pancreatic exocrine function in healthy adults using secretin-enhanced MRCP

Yun Bian, Li Wang, Jian-Ping Lu, Qun Wu, Shi-Yue Chen, Le Chang, Li-Na Xie

Yun Bian, Li Wang, Jian-Ping Lu, Qun Wu, Shi-Yue Chen, Le Chang, Li-Na Xie, Department of Radiology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China
Yun Bian, Department of Radiology, the 411st Hospital of Chinese PLA, Shanghai 200081, China
Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 81070371
Correspondence to: Li Wang, Department of Radiology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, 168 Changhai Road, Shanghai 200433, China. wangli_changhai@163.com
Received: 2013-01-26 Revised: 2013-03-13
Accepted: 2013-03-29 Published online: 2013-04-18

Abstract

AIM: To assess the value of secretin-enhanced magnetic resonance cholangiopancreatography (MRCP) and fecal elastase 1 (FE-1) tests for quantification of exocrine function in normal adults.

METHODS: From April 2011 to January 2013, 17 healthy volunteers were enrolled in the study. There were 5 females and 12 males. Their median age was 44.0 years ± 14.4 years (24-64 years), and their median BMI was 24.5 ± 13.4 (18.9-31.1). All subjects had undergone both MRCP and FE-1. Coronal T2-weighted sequences and MRCP were performed before and at a 2 min interval after administration of 0.1 mL/kg secretin. Semiquantitative s-MRCP grading for duodenal filling was used to preliminarily assess the exocrine function of the pancreas. By drawing an appropriate region of interest, changes in signal intensity in the imaging volume were plotted against time and the flow rate derived from the gradient. Pancreatic exocrine secretions were quantified by pancreatic flow output (PFR) and peak time (PT).

RESULTS: Phantom experiments showed a good correlation between known and calculated volumes of water ($P < 0.001$). Ten minutes after secretin administration, 17 volunteers showed a duodenal filling beyond the genu inferius (grade 3). Mean FE-1 was 353.3 μg/g ± 134.7 μg/g (range 201.55-673.20 μg/g). Mean PFR was 8.17 mL/min ± 1.11 mL/min (range 6.2-11.0 mL/min), and mean PT was 5.2 min ± 1.2 min (range 3-7 min). There is a good correlation between PFR and FE-1 ($P < 0.001$).

CONCLUSION: Semi-SMRCPQ can be used to preliminarily assess the exocrine function of the pancreas. SMRCP provides a safe, non-invasive, efficient method for evaluating the exocrine function of the pancreas.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Pancreatic exocrine function; Secretin; Magnetic resonance cholangiopancreatography; Quantitative analysis

Bian Y, Wang L, Lu JP, Wu Q, Chen SY, Chen L, Xie LN. Quantitative analysis of pancreatic exocrine function in healthy adults using secretin-enhanced MRCP. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(11): 978-983 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/978.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i11.978

摘要

目的: 探讨胰泌素刺激磁共振胰胆管造影

■同行评议者
龙学颖, 副主任医师, 中南大学湘雅医院

(S-magnetic resonance cholangiopancreatography, S-MRCP)半定量和定量对健康成人胰腺外分泌功能评估的价值.

方法: 回顾性分析17例健康志愿者的3.0T MR影像学资料, 其中女5例, 男12例, 平均年龄44.0岁±14.4岁(24-64岁), 体质量指数(body mass index, BMI)平均为24.5±13.4(18.9-31.1). 对受试者进行冠状位T2加权扫描和MRCP、S-MRCP、常规胰腺水模(measurement phantoms, MP)检查, 绘制出时间-胰液分泌量曲线, 并计算出十二指肠内的胰液的流率和胰液分泌的达峰时间.

结果: 水模试验证实了MP测得的水的体积和实际水的体积有很好的相关性. 健康人粪便中的粪弹性蛋白酶(fecal elastase 1, FE-1)的均值是301.55-673.20 μg/g, 均值是525.4 μg/g±94.4 μg/g. 注射胰泌素后10 min胰液流率是平均为8.17 mL/min±1.11 mL/min(6.2-11 mL/min, 分泌量达峰时间平均为5.2 min±1.2 min(3-7 min).

结论: S-MRCP半定量测量可以用来初步评估胰腺的外分泌功能, S-MRCP可以定量测量、准确评估胰腺的外分泌功能. S-MRCP为临床提供一种安全、无创、高效的评估胰腺的外分泌功能的检查方法.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 胰腺外分泌功能; 胰泌素; 磁共振胰胆管成像; 定量研究

核心提示: 所有受试者注射胰泌素10 min后, 十二指肠内充盈量均为grade 3级, MRCPQ测得健康成人胰液流率为6.2-11.0 mL/min, 平均为8.17 mL/min±1.11 mL/min, 分泌量达峰时间约为3-7 min, 平均为5.2 min±1.2 min.

边云, 王莉, 陆建平, 武群, 陈士跃, 常乐, 谢丽娜. 胰泌素增强磁共振胰胆管造影对健康成人胰腺外分泌功能的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(11): 978-983 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/978.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i11.978

0 引言

胰腺是仅次于肝脏的人体内第2大外分泌器官, 胰腺外分泌功能的评价一直很困难[1-5]. 本研究以临床上使用最多且准确率最高的间接胰腺外分泌功能试验粪弹性蛋白酶(fecal elastase 1, FE-1)测定为金标准, 探讨磁共振胰胆管造影(S-magnetic resonance cholangiopancreatography, S-MRCP)半定量和定量评估正常人胰腺外分泌功能的价值.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2011-04/2013-04于我院就诊的患者, 纳入标准为经临床及其影像学检查排除有胰腺病变. 所有受试对象的排除标准: (1)患者不能配合而致图像模糊; (2)腹腔内其他疾病影响到胰腺显示; (3)受试者有影响胰腺血流动力学的局部或全身性疾病; (4)糖尿病; (5)影像图像上显示胰腺明显萎缩或脂肪化; (6)怀孕或准备怀孕的妇女. 所以志愿者均签知情同意书. 研究对象的临床基本资料, 17例中女5例, 男12例, 年龄24-64岁, 平均年龄44.0岁±14.4岁, 体质量指数(body mass index, BMI)18.9-31.1, 平均为24.5±13.4. GE Signa Excite 3.0T超导型磁共振仪(GE, American); FE-1酶联吸附测定(ELISA)试剂盒(ScheBo. Tech, Germany).

1.2 方法

1.2.1 非侵入性试验: 于排出72 h内收集受试者粪便, -20 ℃冻存.

1.2.2 水模(measurement phantoms, MP)检查方法: 采用GE Signa Excite 3.0T超导型磁共振仪. 受试者采取仰卧位, 进行胰腺扫描. 要求受试者检查前禁食禁水6 h, 为保证感兴趣中心的体素含有100%的水份, 检查前即刻饮入100 mL纯净水. T2抑脂加权冠状面扫描, 使用8通道相控阵表面线圈(torso phased array coil), TR/TE 1 375/119 ms, 层厚9 mm, 无层间距, echo time 119 ms, FA 90, FOV: 400×400, 矩阵: 224×288. MRCP扫描采用SS-RARE序列, 使用体线圈(body coil), TR/TE 7 000/1 270-1 230 ms, 层厚64 mm, echo time 1 274 ms, FA 90度, FOV: 320 mm×320 mm-420 mm×420 mm, 矩阵288×288, 扫描时FOV沿着胰腺长轴定位. 先进行MRCP基线扫描, 然后以0.1 mL/kg的量静脉注射胰泌素(Secrelux, Sanochemia, Germany), 1 min后重复MRCP扫描(参数保持一致), 以后以2 min为间隔重复进行MRCP扫描至15 min, 即分别在1、3、5、7、9、11 min扫描, 每个时间点扫描层面完全重合. 增强扫描采用对比剂钆喷酸替葡甲胺, 剂量为0.1 mL/kg, 高压注射器以2 mL/s静脉内推注. 采用容积超快速多期动态(3D LAVA)增强序列在动脉期、

■研发前沿
S-MRCPQ是一种在胰泌素刺激下量化评估胰液分泌的方法. 目前国外文献已经报道此方法能够准确的量化胰液分泌的流率和达峰时间. 但是S-MRCPQ是否能够准确评估胰液实际的分泌量还有待进一步研究.

■相关报道
S-MRCPQ测得PFR<5 mL/min, FE-1<200 μg/g被认为外分泌功能异常.

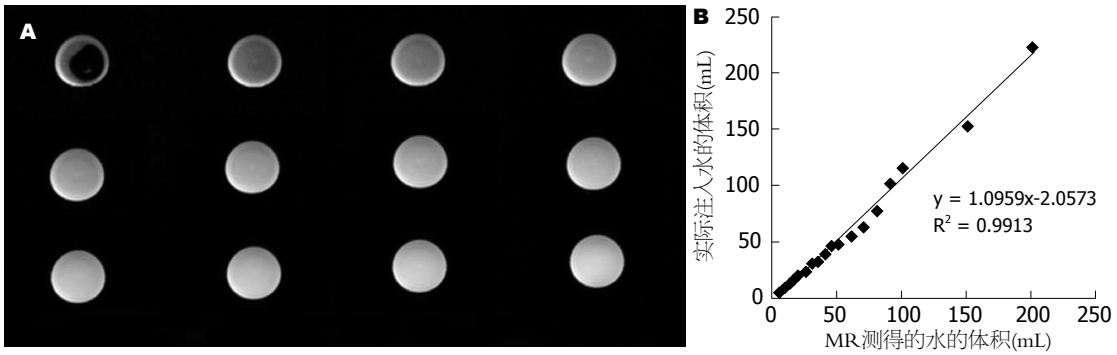


图 1 水模实验. A: 为水模内5-70 mL水的MR图像; B: MR测得的水的体积与实际注入水的体积关系线图.

实质期及延迟期动态增强扫描, TR/TE 2.58/1.18 ms, 层厚5 mm, echo time 1.18 ms, FA 11, FOV: 320 mm×320 mm-420 mm×420 mm, 矩阵: 224×270.

1.2.3 MP实验: 准备充有生理盐水的圆柱形MP. 需要被测量的MP体积在0-200 mL之间变化, 向MP中注入一定体积的生理盐水后进行MR扫描, 其中MP体积在0-50 mL、50-100 mL、100-200 mL时, 每次注入生理盐水的量分别为5、10、50 mL, 直到MP内注满水为止. MR扫描时采用上述与受试者完全相同的SS-RARE序列参数. 当MP完全装满200 mL水后, 测中间层面100%含水的平均信号强度.

1.2.4 图像分析: 图像由两名有十年以上MR工作经验的放射科医师共同阅片. (1)胰管的评估: 观察注射胰泌素前后主胰管的形态及其变化特征以及有无分支胰管出现; (2)SMRCP半定量评估: 胰泌素注射10 min前后十二指肠的充盈量(duodenal filling, DF)的比较: 根据Matos等[6]提出的十二指肠充盈程度分级标准, 将其分为4级: 0级无液体可见; 1级充盈局限于十二指肠球部; 2级充盈局限于十二指肠降部; 3级充盈至十二指肠水平部或以上. <3级均可诊断胰腺外分泌功能异常; (3)SMRCP的定量评估: 十二指肠内胰液的流率(pancreatic flow rate mL/min, PFR)的测定: 画感兴趣区(region of interest, ROI), 感兴趣区尽可能的大, 包含胃肠道及胰腺组织, 由后处理工作站直接生成mean signal intensity/voxel和volume of ROI以及100%含水的体素的信号值. 用以下公式[7,8]计算感兴趣区内水含量, 用胰泌素刺激后的水含量减去基线水含量, 得到每个时间点胰液的分泌量, 并绘制时间-胰液分泌量曲线和每个时间点胰液分泌量, 计算出PFR和胰液分泌达峰时间(peak time, PT).

$$\text{Volume} = \frac{\text{Mean signal intensity/voxel} \times \text{size of the region of interest}}{\text{Signal intensity in a voxel containing 100\% water}}$$

统计学处理 所有资料运用SPSS20.0统计软件进行统计学分析和处理. 计量资料连续性变量用mean±SD表示. 十二指肠内流率PFR与FE-1之间相关性分析采用Pearson相关性检验, $P<0.01$认为有相关性.

2 结果

水模实验证实所测得的水的信号变化与实际注入的水体积有很好的相关性(图1), $P<0.001$.

17例受试者中有1例环状胰腺, 2例胰腺分裂, 2例胆囊多发结石. 注射胰泌素后, 所有受试者胰胆管解剖结构均较注射前显示清楚, 主胰管在胰泌素注射后管径均增粗, 17例中无一例有分支胰管显示(图2, 3).

本组所有数据测得FE-1的值为201.55-673.20 μg/g, 均值是353.3 μg/g±134.7 μg/g.

所有受试者注射胰泌素注射后10 min, 十二指肠内充盈量均为3级, MRCPQ测得健康人胰液流率为6.2-11 mL/min, 平均为8.17 mL/min±1.11 mL/min, 分泌量达峰时间约为3-7 min, 平均为5.2 min±1.2 min(图4).

PFR与FE-1之间有着很好的相关性(图5), $P<0.001$.

3 讨论

3.1 胰腺外分泌功能评价现状及SMRCP评价胰腺外分泌功能的优势 胰腺外分泌功能是临床上诊断慢性胰腺炎和评估患者病情的重要依据[8]. 目前临床上应用的胰腺外分泌功能检查方法繁多, 大体分为直接胰功能试验和间接胰功

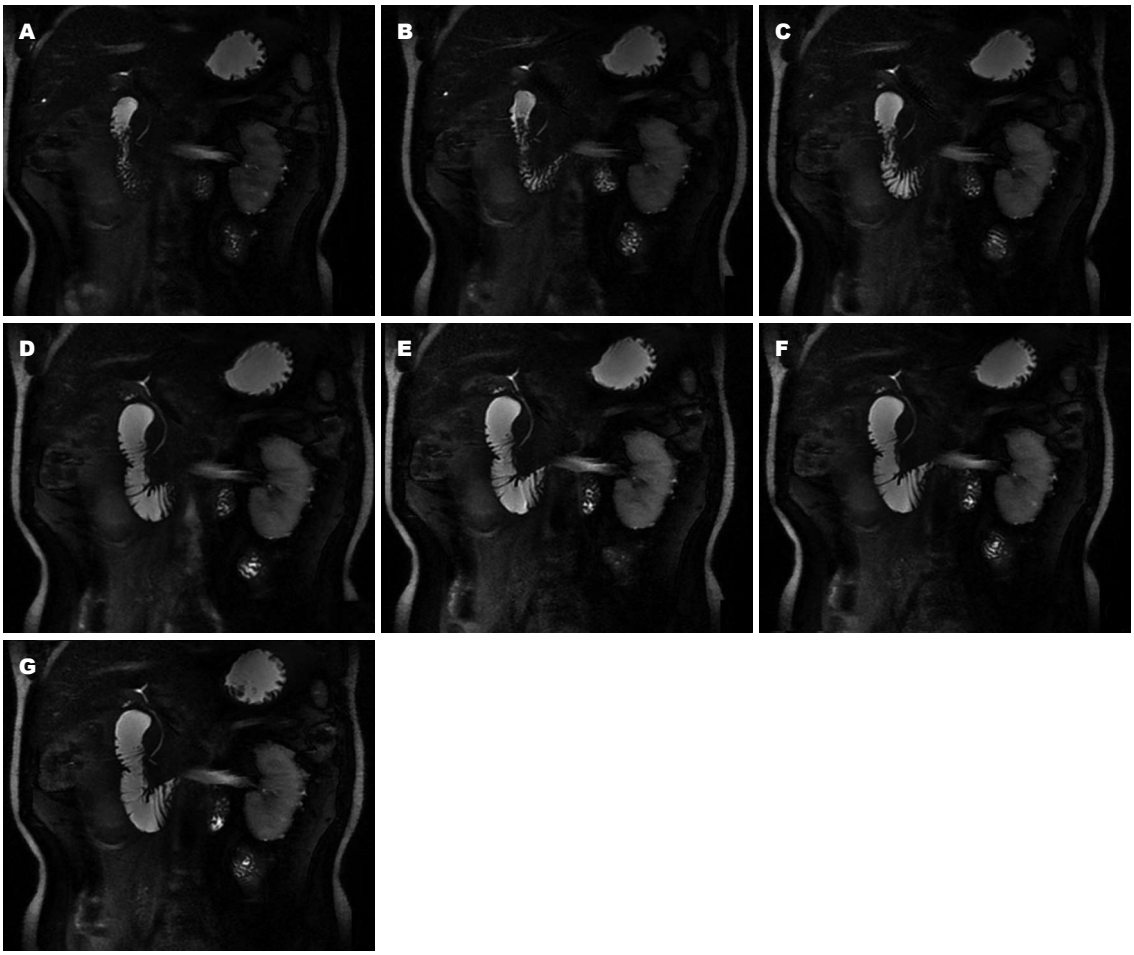


图 2 冠状位T2WI图像. A: 注射胰泌素前冠状位T2WI图像; B-G: 注射胰泌素后1、3、5、7、9、11 min的T2WI冠状位图像.

■创新盘点
本研究中采用厚层块MRCP扫描, 一次扫描可以包括胃肠道内所有液体, 防止液体丢失而导致假阳性发生.

能试验. 直接胰功能试验需要给受试者静脉内注射标准量的胰泌素引起胰腺外分泌活动, 然后插管至十二指肠收集胰液, 根据标准单位时间胰液的分泌量来评估胰腺的外分泌功能. 因其是直接检查胰液分泌的方法, 所以至今仍是评估胰腺外分泌功能的“金标准”[7], 但是缺点是需要插管至十二指肠内采集胰液, 试验因侵入性、耗时、费力且价格昂贵, 又很难标准化, 给患者带来较大痛苦, 在临床上很难顺利和常规开展. 间接胰功能试验中临床上运用较多的是BT-PABA(N-苯甲酰-*L*-酪氨酸-对氨基苯甲酸)试验和FE-1测定. BT-PABA试验是口服试剂后测定尿液中特定物质的排泄量, 所以试验结果除受到胃肠、肝肾功能影响外, 还受到磺胺药、利尿剂、复合维生素B、胰酶抑制剂等影响, 会出现假阳性; 在诊断轻度或早期胰腺炎患者时敏感性很低甚至无效. FE-1测定不受替代疗法的影响[9], 但是对早期胰腺外分泌功能不全敏感度低, 有文献报道称FE-1对于轻中度胰腺炎无诊断价值[10], 此外小肠黏膜的形态异常也会引起FE-1的减少. SMRCP较传统的测试方法比, 其优势是: (1)非侵入性, 且不是间接而是直接测量, 可以从形态和功能两方面比较完整、动态、定量地评价胰腺; (2)无创、无辐射、安全、可靠.

3.2 相关的技术问题 本试验对胰腺的外分泌功能进行量化评估, 为了保证数据的相对准确性, 我们在试验中选定了一个100%的含水区来校正这个结果. 100%的含水区被定义为在水模充盈最饱满时的中心层面. 这时所测得水的信号受到周围的影响因素最小. 如果不能选取100%的含水区, 将会导致测得的流率变高[11]. 另外在水模试验和MRCP扫描时候中我们采用了体部线圈而不采用体部相控线圈, 因为相控线圈产生的信号不均匀, 离线圈越近信号越高, 而体部线圈可以使水的信号更均匀, 这样测得的水的信号更准确.

本研究采用了半定量和定量的方法评估胰腺的外分泌功能. 正常受试者在注射胰泌素10 min内胰液分泌均可达到十二指肠水平段, 因此可见半定量评估胰腺的外分泌功能方法简单,

■应用要点
注射胰泌素后进行MRCP厚层块多期动态扫描, 通过像素值的变化计算出胰液的流率和胰液分泌的达峰时间, 这种检测方法既无创又准确, 值得临床上推广应用.

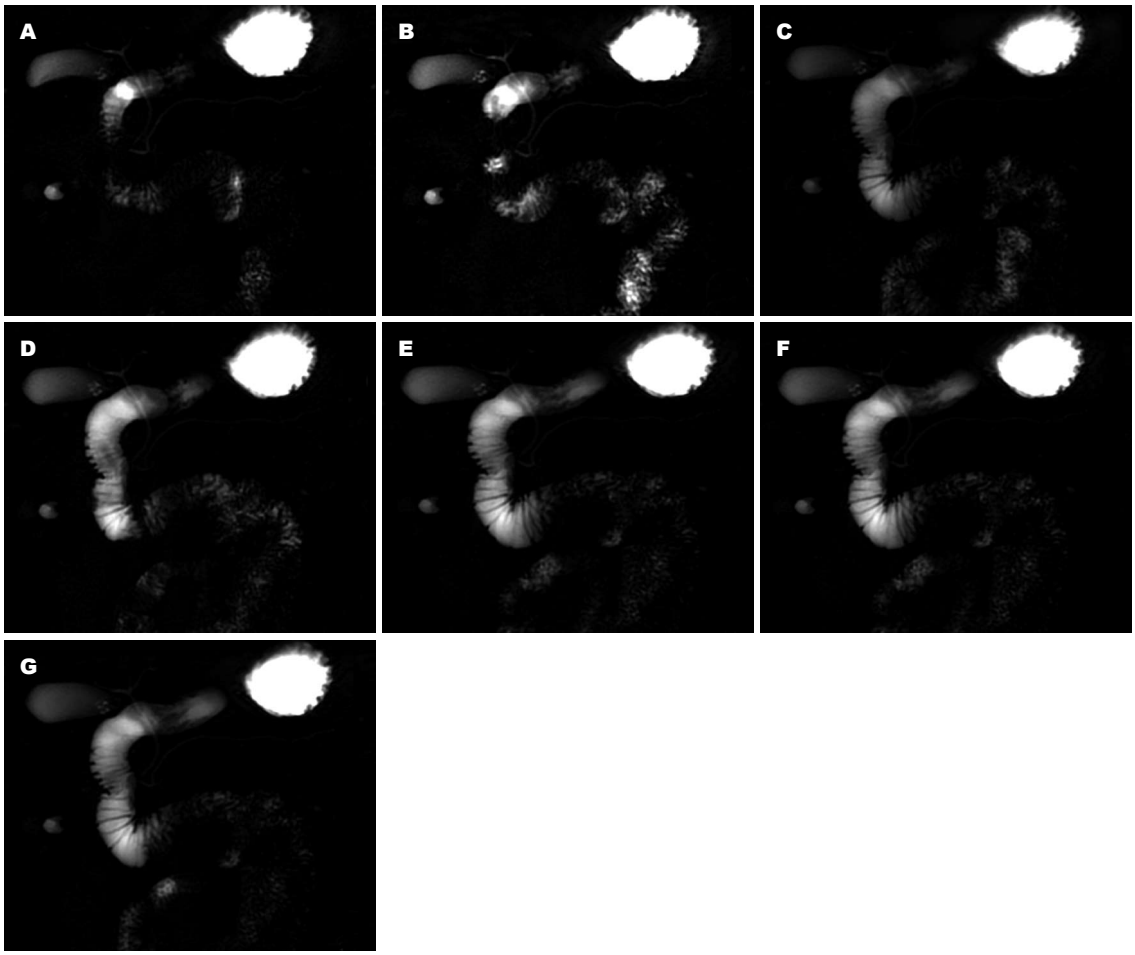


图 3 MRCP图像. A: 注射胰泌素前MRCP图像; B-G: 注射胰泌素后1、3、5、7、9、11 min的MRCP图像.

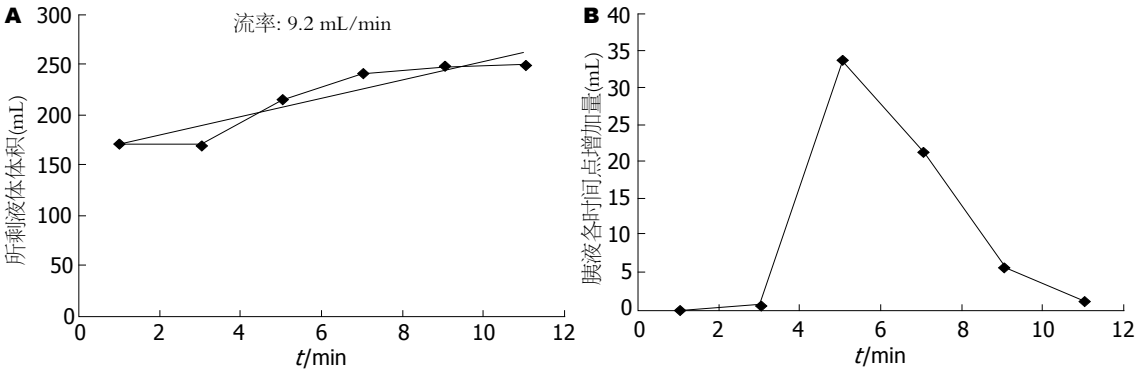


图 4 胰泌素对胰液分泌量的影响. A: 注射胰泌素后胰液分泌量随时间变化的曲线; B: 注射胰泌素后每个采集时间点胰液增量随时间变化的曲线, 可见在注射胰泌素后5 min胰液分泌量达到峰值.

初步评估胰腺的外分泌功能, 但是对于轻度胰腺外分泌功能不足的患者, 此方法还缺乏敏感性. 测定胰液分泌的流率来定量评估胰腺外分泌功能, 过程较半定量评估方法繁琐, 但是敏感性、特异性均较高, 因此对于轻度胰腺外分泌功能不足的诊断有较高的利用价值[12]. 值得注意的是, 在进行MRCP扫描时, 厚度选为64 mm, 这个层厚可以保证在一次厚层块扫描中将腹部所有液体包括在内, 防止因为层厚薄引起液体丢失. 在测定胰液流率的时候, 我们利用的是时间、信号变化的相对值做直线后算得斜率为胰液的流率, 这并不代表胰液分泌的实际体积.

本研究的样本量较小, 但是在本研究中我们还是能够准确地量化评估正常人胰腺外分泌功能. 总之SMRCPQ是一个非侵入性、直接测量胰腺外分泌功能的一种准确而可靠的方法, 可

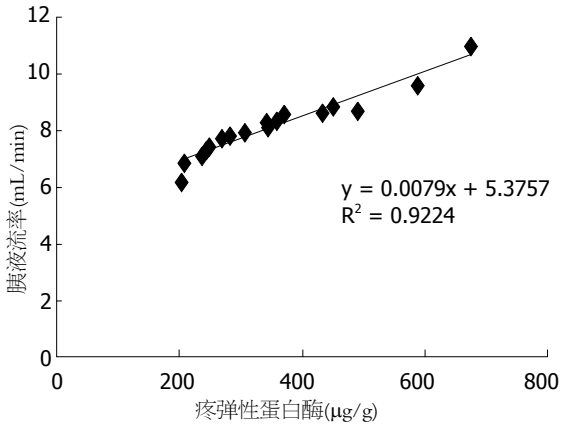


图 5 胰液流率与粪弹性蛋白酶之间关系线图.

以为临床诊断和治疗胰腺疾病提供有价值的参考信息.

4 参考文献

1 Balci NC, Alkaade S, Magas L, Momtahen AJ, Burton FR. Suspected chronic pancreatitis with normal MRCP: findings on MRI in correlation with secretin MRCP. *J Magn Reson Imaging* 2008; 27: 125-131 [PMID: 18058927 DOI: 10.1002/jmri.21241]

2 Stevens T, Dumot JA, Zuccaro G, Vargo JJ, Parsi MA, Lopez R, Kirchner HL, Purich E, Conwell DL. Evaluation of duct-cell and acinar-cell function and endosonographic abnormalities in patients with suspected chronic pancreatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7: 114-119 [PMID: 18955165 DOI: 10.1016/j.cgh.2008.09.002]

3 Hahn JU, Kerner W, Maisonneuve P, Lowenfels AB, Lankisch PG. Low fecal elastase 1 levels do not indicate exocrine pancreatic insufficiency in type-1 diabetes mellitus. *Pancreas* 2008; 36: 274-278 [PMID: 18362841 DOI: 10.1097/MPA.0b013e3181656f8]

4 Nakamura H, Morifuji M, Murakami Y, Uemura K, Ohge H, Hayashidani Y, Sudo T, Sueda T. Usefulness of a 13C-labeled mixed triglyceride breath test for assessing pancreatic exocrine function after pancreatic surgery. *Surgery* 2009; 145: 168-175 [PMID: 19167971 DOI: 10.1016/j.surg.2008.08.013]

5 Alkaade S, Cem Balci N, Momtahen AJ, Burton F. Normal pancreatic exocrine function does not exclude MRI/MRCP chronic pancreatitis findings. *J Clin Gastroenterol* 2008; 42: 950-955 [PMID: 18645530 DOI: 10.1097/MCG.0b013e31812f4ef5]

6 Matos C, Metens T, Devière J, Nicaise N, Braudé P, Van Yperen G, Cremer M, Struyven J. Pancreatic duct: morphologic and functional evaluation with dynamic MR pancreatography after secretin stimulation. *Radiology* 1997; 203: 435-441 [PMID: 9114101]

7 Gillams A, Pereira S, Webster G, Lees W. Correlation of MRCP quantification (MRCPQ) with conventional non-invasive pancreatic exocrine function tests. *Abdom Imaging* 2008; 33: 469-473 [PMID: 17653788 DOI: 10.1007/s00261-007-9286-1]

8 Punwani S, Gillams AR, Lees WR. Non-invasive quantification of pancreatic exocrine function using secretin-stimulated MRCP. *Eur Radiol* 2003; 13: 273-276 [PMID: 12598990]

9 Lieb JG, Draganov PV. Pancreatic function testing: here to stay for the 21st century. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 3149-3158 [PMID: 18506918 DOI: 10.3748/wjg.14.3149]

10 Akisik MF, Aisen AM, Sandrasegaran K, Jennings SG, Lin C, Sherman S, Lin JA, Rydberg M. Assessment of chronic pancreatitis: utility of diffusion-weighted MR imaging with secretin enhancement. *Radiology* 2009; 250: 103-109 [PMID: 19001148 DOI: 10.1148/radiol.2493080160]

11 Bali MA, Sztantics A, Metens T, Arvanitakis M, Delhaye M, Devière J, Matos C. Quantification of pancreatic exocrine function with secretin-enhanced magnetic resonance cholangiopancreatography: normal values and short-term effects of pancreatic duct drainage procedures in chronic pancreatitis. Initial results. *Eur Radiol* 2005; 15: 2110-2121 [PMID: 15991016 DOI: 10.1007/s00330-005-2819-5]

12 Gillams AR, Lees WR. Quantitative secretin MRCP (MRCPQ): results in 215 patients with known or suspected pancreatic pathology. *Eur Radiol* 2007; 17: 2984-2990 [PMID: 17619882 DOI: 10.1007/s00330-007-0708-9]

■同行评价

本文新颖性较好, 可为国内对胰腺外分泌功能检测提供参考.

编辑 田滢 电编 鲁亚静

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》栏目设置

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2013年4月18日; 21(11): 984-989
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

肝脏原发性神经内分泌肿瘤的研究现状

李晓琼, 张 华, 李健丁

■背景资料
肝脏原发性神经内分泌肿瘤是一类原发于肝脏的神经内分泌肿瘤, 他的起源尚有争议, 目前有3种假设, 分别是起源于肝内胆管上皮弥散的神经内分泌细胞、肝内异位的胰腺及肾上腺组织以及肝内单一的恶性肿瘤肝细胞的分化.

李晓琼, 张华, 李健丁, 山西医科大学第一医院CT室 山西省太原市 030001
李晓琼, 主要从事影像医学与核医学的研究.
作者贡献分布: 本文综述由李晓琼完成; 李健丁与张华审校.
通讯作者: 李健丁, 教授, 主任医师, 博士生导师, 030001, 山西省太原市解放南路85号, 山西医科大学第一医院CT室.
cjr.lijianding@vip.163.com
收稿日期: 2013-01-21 修回日期: 2013-02-06
接受日期: 2013-03-14 在线出版日期: 2013-04-18

Advances in research of primary hepatic neuroendocrine tumors

Xiao-Qiong Li, Hua Zhang, Jian-Ding Li

Xiao-Qiong Li, Hua Zhang, Jian-Ding Li, CT Room, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China
Correspondence to: Jian-Ding Li, Professor, Chief Physician, CT Room, the First Hospital of Shanxi Medical University, 85 Jianfang South Road,Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. cjr.lijianding@vip.163.com
Received: 2013-01-21 Revised: 2013-02-06
Accepted: 2013-03-14 Published online: 2013-04-18

Abstract
Neuroendocrine tumors are a kind of tumor derived from the neuroendocrine system. Hepatic neuroendocrine tumors are uncommon, and primary hepatic neuroendocrine tumors are even rarer. The clinical symptoms and imaging findings of primary hepatic neuroendocrine tumors are often unspecific. In addition, due to the homology among neuroendocrine tumors, primary hepatic neuroendocrine tumors have no specific pathological changes or serum specific markers compared with neuroendocrine tumor liver metastases. The diagnosis of primary hepatic neuroendocrine tumors relies on combining with a wide range of examinations and ruling out extrahepatic neuroendocrine tumors. Currently, surgery is the main treatment for primary hepatic neuroendocrine tumors. In this article, we review the clinical symptoms, classification, serological and radiographic features, and treatment of primary hepatic neuroendocrine tumors.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Neuroendocrine tumors; Histological classification; Computed tomography; Magnetic resonance imaging; Functional imaging

Li XQ, Zhang H, Li JD. Advances in research of primary hepatic neuroendocrine tumors. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(11): 984-989 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/984.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i11.984

摘要
神经内分泌肿瘤(neuroendocrine tumor, NET)是来源于神经内分泌系统的一种肿瘤, 肝脏的此类肿瘤在临床上比较少见, 原发性的肝脏神经内分泌肿瘤更为少见, 临床症状及影像学检查上缺乏特异性, 而又由于NET具有同源性, 所以他与肝脏转移性的NET在病理学及血清特异标志物的检测发面也缺乏特异性. 因此必须结合多方面的检查手段, 排除有肝外原发灶的存在才能诊断, 目前对于肝脏原发性NET主要的治疗手段是手术治疗. 现从临床症状、分类、血清学及影像学检查及治疗方面对其进行综述.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 神经内分泌肿瘤; 组织学分类; 体层摄影术; 磁共振成像; 功能成像

核心提示: 肝脏原发性神经内分泌肿瘤(neuroendocrine tumor)是一种极为罕见且恶性程度很高的肿瘤, 以往其报道较少, 因为其临床症状、影像学表现等都缺乏特异性, 在临床工作中容易将其忽视.

李晓琼, 张华, 李健丁. 肝脏原发性神经内分泌肿瘤的研究现状. 世界华人消化杂志 2013; 21(11): 984-989 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/984.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i11.984

■同行评议者
卢晓梅, 教授, 新疆医科大学第一附属医院医学研究中心; 倪润洲, 教授, 主任医师, 南通大学附属医院消化内科

0 引言
19世纪病理学家Oberndorfer最早对神经内分泌肿瘤(neuroendocrine tumor, NET)进行描述, 随着对其了解的不断深入, 现今已成为病理学等学科的研究热点. 肝脏原发性神经内分泌肿瘤

(primary hepatic neuroendocrine tumor, PHNEN)是原发于肝脏的此类肿瘤, 极为罕见, 他的临床症状、影像学表现等均缺乏特异性, 且以往文献报道少见, 现就其诊断及治疗进行综述.

1 神经内分泌肿瘤概述

人体除了垂体、肾上腺、甲状腺等各大内分泌腺体外, 还存在着广泛的、弥散于各组织器官的神经内分泌细胞, 称为弥散神经内分泌系统(diffuse neuroendocrine system, DNES), 他们具有胺前体摄取和脱羧能力. NET是起源于此系统的肿瘤, 可发生在身体的各个部位, 发病高峰在50-70岁. 随着对疾病的研究不断深入, 检查手段的不断进步, 他的发病率在不断提高, 现在多数研究者已不认为其是一种罕见病[1].

NET最早的研究要追溯到19世纪病理学家Oberndorfer掀起的关于胃肠胰神经内分泌肿瘤(gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors, GEP NET)的讨论, 随着对这种疾病认识的不断加深, 直到2000年WHO才将其正式命名为“神经内分泌肿瘤”[2].

该肿瘤依据其有无分泌功能分为两类: 一类是功能性神经内分泌肿瘤, 另一类是无功能性的神经内分泌肿瘤. 前者根据分泌的物质不同而引发相应的症状分为两类: (1)类癌综合征, 由于大量的生物肽释放会出现持续性的皮肤潮红, 伴或不伴有支气管痉挛、心动过速和血压升高, 严重者会累及心脏, 影响发病率与死亡率[3,4]. 有类癌综合征的患者因为其临床症状很重, 所以生活质量往往很低; (2)一些特殊激素分泌所引发的症状, 例如Zollinger-Ellison综合征(胃泌素瘤)、神经性低血糖症(胰岛素瘤)、坏死性游走性红斑伴有贫血以及血小板减少(胰高血糖素瘤).

2 肝脏原发性神经内分泌肿瘤

PHNEN极为罕见, 回顾以往文献, 报道的此类肿瘤也不过100例. 现在对PHNEN的起源尚不明确, 但一般认为其起源于肝毛细胞胆管内的神经内分泌细胞或异位的胰腺及肾上腺.

2.1 组织病理学特征 肝脏神经内分泌肿瘤组织可呈小梁状、带状、实性瘤巢、腺泡状、管状; 肿瘤细胞较小, 胞质少, 细胞核呈圆形或卵圆形, 核质比例大, 核染色深, 核分裂象多见, Ki-67指数明显增高; 病灶内可见神经内分泌颗粒; 免疫组织化学嗜铬粒蛋白(CgA)、神经特异性烯醇(NSE)、Syn呈阳性.

表 1 2000年WHO神经内分泌肿瘤分类标准

WHO分级	标准
WHO1	高分化神经内分泌肿瘤
WHO2	高分化神经内分泌癌
WHO3	低分化神经内分泌癌, 外分泌、内分泌混合肿瘤, 类肿瘤样病变

2.2 流行病学表现 肝脏原发性的神经内分泌肿瘤的发病率很低, 仅仅占所有原发性肝脏肿瘤的0.46%[5], 占全身神经内分泌肿瘤的0.8%-4.0%[6,7]. 此病常见于成年女性, 男女比例为58.5%∶41.5%, 平均年龄>40岁[8], 据报道肝右叶比肝左叶更易发生, 左右叶均有者也可见.

2.3 分类 过去一般将PHNEN分为类癌和神经内分泌癌两种[9], 但是这种分类方法的局限性比较大, 很难找到二者一个明确的界限. 2000年WHO将全身的神经内分泌肿瘤分为3级[10](表1), 然而这种分类方法对于临床的治疗有一定的局限性, 2007欧洲神经内分泌肿瘤协会又将TNM分期引入其中, 按Ki-67(MIB1)指数将其分为3级[11,12](表2), 但是WHO系统主要强调的是肿瘤细胞和其相应的非肿瘤细胞的类似性, 而ENETS分级系统则是强调肿瘤固有的生物学恶性程度, 两种分类方法均有一定的局限性. 目前还没有一种比较准确的专门针对PHNEN的分类方法. 于是有文献提出可以借鉴2010年WHO对于胃肠胰神经内分泌肿瘤的分类[13], 这种分类方式的核心观点是肿瘤都具有潜在恶性, 而其发生转移的概率不同, 他涉及了肿瘤的分化程度、增殖性等基本标准, 还加入了肿瘤的体积、累及范围和对血管的侵袭性的TNM分期, 将其分为5级[14,15](表3). 该文献指出核型为3级的恶性度很高, 所以其组织分化程度对预后的意义很大.

2.4 临床症状 就临床症状来说, PHNEN不同于其他部位的此类肿瘤, 一般无类癌综合征的表现, 往往是因为肿瘤生长的过大出现腹痛、压迫胆管出现梗阻性黄疸或是发生转移而出现相应的症状来就诊.

2.5 血清特征标志物的检测 对于血清特征性标志物的检测是诊断神经内分泌肿瘤的一个有效的方法, 主要有CgA、5-羟基吲哚-3-乙酸、NSE等. 其中CgA是由肾上腺髓质的神经内分泌细胞分泌的, 并且在有功能及无功能的神经内分泌肿瘤患者的血清中均能检测到, 而且其与肿瘤的大小有很好的相关性, 现今研究表明血清中

■研发前沿

近几年对神经内分泌肿瘤治疗的研究集中在靶向治疗, 用靶向药物mTOR抑制剂或多靶点酪氨酸激酶抑制剂治疗胰腺进展期神经内分泌肿瘤取得了显著疗效, 但是应用于肝脏原发性神经内分泌肿瘤还有待进一步研究.

■相关报道
Yang等对混合有神经内分泌肿瘤及肝细胞癌成分的肿瘤进行研究, 发现肝细胞癌成分有被神经内分泌肿瘤成分所替代的趋势, 推测肝脏原发性神经内分泌肿瘤的恶性度高于肝细胞癌, 并就其起源更倾向于神经内分泌肿瘤来源肝细胞癌分化某些环节.

表 2 2007年神经内分泌肿瘤ENETS指南分级标准

级别	分级标准
G1(低级别)	<2个核分裂象/10 HP和/或Ki-67指数<2%
G1(中等级别)	2-10个核分裂象/10 HP和/或Ki-67指数3%-20%
G1(高级别)	≥21个核分裂象/10 HP和/或Ki-67指数>20%

表 3 2010年胃肠胰神经内分泌肿瘤WHO分类

分类	标准
神经内分泌肿瘤(包括类癌), 低度恶性(G1)	核分裂象<2个/10 HPF, Ki-67增殖指数＜3%
神经内分泌肿瘤, 中度恶性(G2)	核分裂象为2-20个/10 HPF, 或Ki-67增殖指数为3%-20%
小细胞或大细胞神经内分泌癌高度恶性(G3)	核分裂象>20 个/10 HPF, 或Ki-67增殖指数＞20%
混合腺神经内分泌癌	同时含有腺管样上皮和神经内分泌细胞, 两组成分均具恶性潜能, 每一组成分至少要超过30%
增生性和瘤前病变	

CgA的水平应该做为检测的首选方法[16], 因为他的敏感性比其他指标都要高, 而且可用于此类肿瘤的术后监测[17]. 5-羟基吲哚-3-乙酸对88%产生5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)的神经内分泌肿瘤有特异性, 而且此指标升高也与不良的预后相关[18], 但是若使用富含色氨酸的食物(香蕉、梨、茄子等)也可使其升高.

2.6 影像学检查 影像学检查对于肝脏的神经内分泌瘤没有很大的优势, 因为其没有特异的影像学表现, 他可以提供给我们的信息是肿瘤发生的部位, 帮助我们寻找原发的病灶, 目前应用于此病的检查手段有超声(ultrasound, US)、计算机断层扫描(computed tomography, CT)、磁共振(magnetic resonance, MR)及功能成像.

2.6.1 US: US检查适用于肝脏这样的实质性器官, 快速、安全、无创, 可以反复操作, 普通的二维超声可以大概显示肿瘤的位置以及邻近组织结构的关系, 而多普勒超声可明显增强血液的回声信号强度, 能明显的区分正常组织和病变组织血流供给及实质性病变的血管分布, 反映正常组织和病变组织的血流灌注[19,20], 可以做为此类疾病的初步筛查.

2.6.2 多层螺旋CT: 近十年来, MDCT的发展大大提高了CT影像的空间分辨力和时间分辨力, 可行腹部多期增强扫描, 空间分辨力已达数毫米. 其优势在于扫描范围广, 一次扫描可以得到多个器官部位的信息. 通过注入造影剂, 可以了解病灶的血供, 得出病灶特征性的表现. 多种重建方式可以得到病变多方面的信息. 尽管肝脏神经内分泌肿瘤的CT表现缺乏特异性, 但是还是有研究总结了一些支持这种疾病的征象: (1)肝脏巨大囊实性肿块, 直径多>5 cm, 内为液化坏死灶, 有时可见钙化, 增强扫描强化程度不明显, 但呈持续强化, 中心坏死区不强化; (2)一个大病灶, 周围环绕着多发的子灶, 增强扫描后轻中度强化[21]; (3)肝内多发大小不等类圆形低密度影, 肿瘤内可见粗细不均分隔, 增强后肿瘤内低密度不强化, 分隔持续强化. 此外, 还有一些肿瘤的间接征象, 例如肿瘤生长过大可压迫邻近结构, 压迫肝内胆管可出现胆系的扩张, 压迫邻近的血管可于增强扫描时见到血供异常的表现等; 如若有癌栓形成, 可出现相应引流血管的充盈缺损. 多层螺旋CT的优势还在于他的检查范围广, 可以在最经济、最快的情况下发现是否出现肝外组织的转移.

2.6.3 MR: MR的组织分辨率要高于其他几种方法, 而且其无辐射, 螯合物对比剂的肾毒性和过敏反应大大低于CT的离子型碘剂, 其T1WI脂肪抑制序列有利于肝脏的低信号病灶的检出, 而且对于小病灶要优于CT. 支持肝脏神经内分泌肿瘤的MR表现有: 肝脏巨大肿块, 肿块呈分叶状, T1WI为低信号及混杂等低信号, T2WI为略高信号及混杂高信号, 内可见类囊性的高信号; DWI呈明显高信号; 增强后病灶由边缘至中心逐渐强化, 呈轻中度强化, 病灶内见未强化区; 远端胆管可扩张[22].

2.6.4 功能成像: 功能成像现今有几种方法: (1)因为神经内分泌肿瘤患者的生长抑素在肿瘤

细胞表面过度表达, 我们可以注射标记的放射性生长抑素类似物(例如^{111}In-DTPA、^{111}In-奥曲肽)(sstr2和sstr5)而使肿瘤成像, 即SRS. 另一种是使用^{131}I-MIBG, 他可以通过去甲肾上腺素转运蛋白进入肿瘤细胞内, 并且储存于神经内分泌颗粒中, 从而可以对肿瘤显影, 对于不能手术或是出现转移的患者也比较适用, 可同时进行针对性放疗, 但是此种方法目前使用的比较少, 主要还是第一种方法; (2)^{68}Ga标记的PET图像虽然现在仅仅处于实验阶段, 但是在不久的将来会很快取代SRS技术, 因为他有更高的灵敏度, 并且易于操作. ^{68}Ga由放射性核素发生装置产生, 并且与DOTA螯合成一个稳定的生长抑素类似物. ^{68}Ga-DOTATOC和^{68}Ga-DOTATATE的图像质量很高, 图像空间分辨率也很高. 有研究表明, ^{68}Ga标记的生长抑素类似物的PET与^{111}In-DTPA、^{111}In-奥曲肽相比灵敏度和特异度都很高[23]; (3)^{18}F-FDG PET并不常规用于神经内分泌肿瘤的显像, 因为这些肿瘤生长缓慢, 而且与其他恶性肿瘤相比, 神经内分泌肿瘤糖酵解速度缓慢, 因此会导致FDG-PET的敏感性降低, 然而, 有新的研究表明, FDG-PET对于死亡风险的预测有很重大的意义, 预后价值超过了传统标记、CgA和肝转移[24].

3 鉴别诊断

3.1 *肝脏内转移性的神经内分泌肿瘤* 发生在肝脏内的神经内分泌肿瘤实际上大多都为转移性的, 以胰腺及胃肠道的神经内分泌肿瘤的转移最为多见. 对于其他部位的神经内分泌肿瘤来说, 其中最主要的一个提示预后的指标就是肝转移[1,25,26].

如果有肝转移的患者出现特异的症状, 如Zollinger-Ellison综合征、神经性低血糖症等, 那么我们很容易诊断出发生在肝脏内的病灶是转移灶, 但事实上发生转移的大多是一些无功能性的肿瘤, 因此其临床症状依旧不典型, 与原发性的神经内分泌肿瘤相似, 大多是由于肝脏内肿瘤生长过大而引发的一系列症状.

因为神经内分泌肿瘤的同源性, 他们的病理及血清学检查也没有很大差异, 但是杨晓鸥等[27]研究显示, NET发生转移的患者其血浆中CgA浓度高于非转移的患者, 故此项指标可对肿瘤是原发还是转移进行鉴别. 此外还有一些特异性的肿瘤标记物例如: 胰岛素(胰岛素瘤)、生长抑素(生长抑素瘤)、5-羟色胺和其代谢物、5-HIAA(小肠类癌)等, 在确定肝内的病灶为转移性病灶时, 这些标志物可以提示原发灶的位置.

在影像学检查方面原发病灶和转移的表现都十分相似, 对于肝脏转移的神经内分泌肿瘤的主要价值在于检出肝内的转移灶, 并寻找肝外的原发病灶. 对于肝脏内转移病灶, MR有一定的优势, 他的组织分辨率高, 可检查较小的病灶, 有一项研究对MR的几种序列进行对比, 分别是T2WI的快速自旋回波序列、T2加权的单发射快速回波序列、不增强的T1WI、肝动脉期的T1WI以及肝静脉期的T1WI, 得出的结论是对于转移性的肝脏神经内分泌肿瘤, 检出病灶最多的是肝动脉期的T1WI, 有70%的病灶被检出, 其中有部分病灶仅在这个序列才能显影[28]. 而对于寻找原发灶来说CT以他扫描范围广的优势可以在短时内找到肝外的原发灶.

总之, 对肝脏原发性和转移性神经内分泌肿瘤的鉴别很难有确定的标准, 因此进行全面仔细的术前检查、术中探查及术后长期随访对于发现肝外微小原发病灶是非常必要的. 因此国外文献认为对于肝脏原发神经内分泌肿瘤的诊断应包括术前、术中、术后3个连续阶段, 缺一不可.

3.2 *肝细胞肝癌* 肝细胞肝癌是肝内最多见的原发性恶性肿瘤, 有文献在研究一种罕见的兼有神经内分泌肿瘤组织和肝细胞癌组织的肿瘤时提到, 神经内分泌肿瘤组织的Ki-67指数大大超过肝细胞癌组织的, 并且在这种肿瘤发展的进程中, 有肝细胞癌组织逐渐被神经内分泌肿瘤组织取代的趋势, 所以推测PHNEN的恶性度要高于肝细胞癌[29].

肝细胞癌一般都有明确的肝病病史(乙型肝炎、肝硬化), 而且肿瘤标志物AFP是其确诊的重要指标之一; 影像学方面, 因为他是主要由肝动脉供血的肿瘤, 所以在打入造影剂后, 在肝动脉期明显的强化, 在静脉及延迟期造影剂会迅速廓清, 即所谓的“快进快出”现象. 以上几点都是神经内分泌肿瘤所没有的特点, 是其主要的鉴别点.

4 治疗

4.1 *手术治疗* 目前, 手术治疗是PHNEN最常用最有效的治疗方法. 完全切除原发肿物, 并且进行淋巴清扫是唯一可能治愈这种疾病的方法, 他取决于疾病所属的阶段、肿瘤生长的位置. 要求肿物单发、分化良好, 患者身体状况可

■创新盘点

肝脏原发性神经内分泌肿瘤比较少见, 临床上对其缺乏比较系统的了解. 本文对其起源、诊断及治疗进行系统的介绍, 并着重对诊断, 尤其是影像学诊断方面进行论述.

■应用要点
肝脏原发性神经内分泌肿瘤要根据血清学、影像学、病理学等多方面的检查手段，并且结合术前、术中、中后随访才能明确诊断.

以耐受手术，并且没有腹腔转移及腹膜外转移等[30]. 但是有50%的患者在发现时已经出现了转移，为了提高患者的生活质量，可以实施切除或破坏大部分瘤组织的姑息治疗，这同样也要根据肿块的位置和其周围的组织器官等情况而定. 有研究表明，姑息治疗后约60%的患者复发，手术后在一些局部或区域转移的患者的5年生存率为35%-80%[31-34].

4.2 *其他方法* 在患者身体状况不能耐受手术或是由于肿瘤生长位置等因素而不能行手术治疗时首选射频消融和介入治疗，局部作用病灶，使病灶缩小，坏死等，此外可以使用化疗和放疗的方法. 目前新兴的方法还有靶向治疗，用靶向药物mTOR抑制剂依维莫斯或多靶点酪氨酸激酶抑制剂舒尼替丁治疗胰腺进展期神经内分泌肿瘤取得了显著疗效[35-37]，III期临床试验显示可以显著延长无进展生存时间，但是，其在肝神经内分泌肿瘤治疗中的作用仍有待进一步研究. 当内科治疗及介入治疗无效时，肝移植是最好的选择，也有文献报道对于多发并且肝功能差的原发性病例采取肝移植比单纯手术切除效果好[38].

5 结论

肝脏的神经内分泌肿瘤的恶性度高，极为少见，而原发性的可以用罕见来形容，且在临床症状及影像学检查又缺乏特异性. 由于所有的神经内分泌肿瘤的来源都是相同的，所以他与肝脏内转移性的神经内分泌肿瘤很难鉴别. 我们在日常的工作中，遇到影像表现为大肿块伴中央坏死，境界较清楚，增强后强化程度轻或不强化，强化方式为环形或分隔样强化，或小肿块但早期淋巴结或远处转移时，在结合其病理及血清学检查，排除有肝外原发灶时，应想到此病. 目前手术治疗是PHNEN的一线治疗方法，在失去手术时机时可以使用介入、射频消融、靶向治疗等.

6 参考文献

1 Yao JC, Hassan M, Phan A, Dagohoy C, Leary C, Mares JE, Abdalla EK, Fleming JB, Vauthey JN, Rashid A, Evans DB. One hundred years after "carcinoid": epidemiology of and prognostic factors for neuroendocrine tumors in 35,825 cases in the United States. *J Clin Oncol* 2008; 26: 3063-3072 [PMID: 18565894 DOI: 10.1200/JCO.2007.15.4377]
2 杨秋霞, 吴静, 张嵘. 神经内分泌肿瘤的诊断研究进展. 国际医学放射学杂志 2011; 34: 418-421
3 Modlin IM, Oberg K, Chung DC, Jensen RT, de Herder WW, Thakker RV, Caplin M, Delle Fave G, Kaltsas GA, Krenning EP, Moss SF, Nilsson O, Rindi G, Salazar R, Ruszniewski P, Sundin A. Gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours. *Lancet Oncol* 2008; 9: 61-72 [PMID: 18177818 DOI: 10.1016/S1470-2045(07)70410-2]
4 Beaumont JL, Cella D, Phan AT, Choi S, Liu Z, Yao JC. Comparison of health-related quality of life in patients with neuroendocrine tumors with quality of life in the general US population. *Pancreas* 2012; 41: 461-466 [PMID: 22422138 DOI: 10.1097/MPA.0b013e3182328045]
5 贾长库. 肝脏原发性神经内分泌肿瘤的诊治. 实用医学杂志 2011; 27: 1449-1451
6 中国胃肠胰神经内分泌肿瘤病理专家组. 中国胃肠胰神经内分泌肿瘤病理学诊断共识. 中华病理学杂志 2011; 40: 257-262
7 Gustafsson BI, Kidd M, Modlin IM. Neuroendocrine tumors of the diffuse neuroendocrine system. *Curr Opin Oncol* 2008; 20: 1-12 [PMID: 18043250 DOI: 10.1097/CCO.0b013e3282f1c595]
8 Lin CW, Lai CH, Hsu CC, Hsu CT, Hsieh PM, Hung KC, Chen YS. Primary hepatic carcinoid tumor: a case report and review of the literature. *Cases J* 2009; 2: 90 [PMID: 19173727 DOI: 10.1186/1757-1626-2-90]
9 Gravante G, De Liguori Carino N, Overton J, Manzia TM, Orlando G. Primary carcinoids of the liver: a review of symptoms, diagnosis and treatments. *Dig Surg* 2008; 25: 364-368 [PMID: 18984960 DOI: 10.1159/000167021]
10 Hamilton SR, Aaltonen LA. Pathology and genetics of tumours of the digestive system. Lyon: IARC press, 2000: 53-54 [PMID:10618190]
11 Rindi G, Klöppel G, Alhman H, Caplin M, Couvelard A, de Herder WW, Erikssson B, Falchetti A, Falconi M, Komminoth P, Körner M, Lopes JM, McNicol AM, Nilsson O, Perren A, Scarpa A, Scoazec JY, Wiedenmann B. TNM staging of foregut (neuro)endocrine tumors: a consensus proposal including a grading system. *Virchows Arch* 2006; 449: 395-401 [PMID: 16967267 DOI: 10.1007/s00428-006-0250-1]
12 Rindi G, Klöppel G, Couvelard A, Komminoth P, Körner M, Lopes JM, McNicol AM, Nilsson O, Perren A, Scarpa A, Scoazec JY, Wiedenmann B. TNM staging of midgut and hindgut (neuro) endocrine tumors: a consensus proposal including a grading system. *Virchows Arch* 2007; 451: 757-762 [PMID: 17674042 DOI: 10.1007/s00428-007-0452-1]
13 赵婧, 杨博, 徐晨, 张文书, 纪元, 陈伶俐, 谭云山, 曾海英, 朱雄增. 肝脏原发性神经内分泌肿瘤临床病理分类及预后分析. 中华病理学杂志 2012; 41: 102-106
14 Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND. WHO classification of tumors of the digestive system. Lyon: IARC Press, 2010: 100-155
15 周晓军, 樊祥山. 解读2010年消化系统肿瘤WHO分类(I). 临床与实验病理学杂志 2011; 27: 341-346
16 Ardill JE, O'Dorisio TM. Circulating biomarkers in neuroendocrine tumors of the enteropancreatic tract: application to diagnosis, monitoring disease, and as prognostic indicators. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2010; 39: 777-790 [PMID: 21095544 DOI: 10.1016/j.ecl.2010.09.001]
17 Korse CM, Bonfrer JM, Aaronson NK, Hart AA, Taal BG. Chromogranin A as an alternative to 5-hydroxyindoleacetic acid in the evaluation of symptoms during treatment of patients with neuroendocrine Tumors. *Neuroendocrinology* 2009; 89: 296-301

[PMID: 18840995 DOI: 10.1159/000162876]
18 Zuetenhorst JM, Korse CM, Bonfrer JM, Peter E, Lamers CB, Taal BG. Daily cyclic changes in the urinary excretion of 5-hydroxyindoleacetic acid in patients with carcinoid tumors. *Clin Chem* 2004; 50: 1634-1639 [PMID: 15247155 DOI: 10.1373/clinchem.2004.032151]
19 Piscaglia F, Lencioni R, Sagrini E, Pina CD, Cioni D, Vidili G, Bolondi L. Characterization of focal liver lesions with contrast-enhanced ultrasound. *Ultrasound Med Biol* 2010; 36: 531-550 [PMID: 20350680 DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2010.01.004]
20 Quaia E, Calliada F, Bertolotto M, Rossi S, Garioni L, Rosa L, Pozzi-Mucelli R. Characterization of focal liver lesions with contrast-specific US modes and a sulfur hexafluoride-filled microbubble contrast agent: diagnostic performance and confidence. *Radiology* 2004; 232: 420-430 [PMID: 15286314 DOI: 10.1148/radiol.2322031401]
21 王冬青, 曾蒙苏, 饶圣祥, 纪元, 程伟中, 杨姗, 樊嘉. 原发性肝神经内分泌癌的影像表现. 中华放射学杂志 2008; 42: 464-466
22 朱正, 赵心明, 周纯武. 肝脏原发神经内分泌癌的影像表现. 中国医学影像技术 2010; 26: 721-723
23 Kayani I, Bomanji JB, Groves A, Conway G, Gacinovic S, Win T, Dickson J, Caplin M, Ell PJ. Functional imaging of neuroendocrine tumors with combined PET/CT using 68Ga-DOTATATE (DOTA-DPhe1,Tyr3-octreotate) and 18F-FDG. *Cancer* 2008; 112: 2447-2455 [PMID: 18383518 DOI: 10.1002/cncr.23469]
24 Binderup T, Knigge U, Loft A, Federspiel B, Kjaer A. 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography predicts survival of patients with neuroendocrine tumors. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 978-985 [PMID: 20103666 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-1759]
25 O'Grady HL, Conlon KC. Pancreatic neuroendocrine tumours. *Eur J Surg Oncol* 2008; 34: 324-332 [PMID: 17967523 DOI: 10.1016/j.ejso.2007.07.209]
26 Steinmüller T, Kianmanesh R, Falconi M, Scarpa A, Taal B, Kwekkeboom DJ, Lopes JM, Perren A, Nikou G, Yao J, Delle Fave GF, O'Toole D. Consensus guidelines for the management of patients with liver metastases from digestive (neuro)endocrine tumors: foregut, midgut, hindgut, and unknown primary. *Neuroendocrinology* 2008; 87: 47-62 [PMID: 18097131 DOI: 10.1159/000111037]
27 杨晓鸥, 李景南, 钱家鸣, 杨红, 陈蔷, 卢琳. 血浆嗜铬粒蛋白A对多种神经内分泌肿瘤的诊断价值. 中华内科杂志 2011; 50: 124-127
28 Dromain C, de Baere T, Baudin E, Galline J, Ducreux M, Boige V, Duvillard P, Laplanche A, Caillet H, Lasser P, Schlumberger M, Sigal R. MR imaging of hepatic metastases caused by neuroendocrine tumors: comparing four techniques. *AJR Am J Roentgenol* 2003; 180: 121-128 [PMID: 12490490]
29 Yang CS, Wen MC, Jan YJ, Wang J, Wu CC. Combined primary neuroendocrine carcinoma and hepatocellular carcinoma of the liver. *J Chin Med Assoc* 2009; 72: 430-433 [PMID: 19686999 DOI: 10.1016/S1726-4901(09)70400-9]
30 Ramage JK, Ahmed A, Ardill J, Bax N, Breen DJ, Caplin ME, Corrie P, Davar J, Davies AH, Lewington V, Meyer T, Newell-Price J, Poston G, Reed N, Rockall A, Steward W, Thakker RV, Toubanakis C, Valle J, Verbeke C, Grossman AB. Guidelines for the management of gastroenteropancreatic neuroendocrine (including carcinoid) tumours (NETs). *Gut* 2012; 61: 6-32 [PMID: 22052063 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-300831]
31 Plöckinger U, Rindi G, Arnold R, Eriksson B, Krenning EP, de Herder WW, Goede A, Caplin M, Oberg K, Reubi JC, Nilsson O, Delle Fave G, Ruszniewski P, Ahlman H, Wiedenmann B. Guidelines for the diagnosis and treatment of neuroendocrine gastrointestinal tumours. A consensus statement on behalf of the European Neuroendocrine Tumour Society (ENETS). *Neuroendocrinology* 2004; 80: 394-424 [PMID: 15838182]
32 Oberg K, Jelic S. Neuroendocrine gastroenteropancreatic tumors: ESMO clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2008; 19 Suppl 2: ii104-ii105 [PMID: 18456741 DOI: 10.1093/annonc/mdn117]
33 Modlin IM, Latich I, Kidd M, Zikusoka M, Eick G. Therapeutic options for gastrointestinal carcinoids. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4: 526-547 [PMID: 16630755]
34 McEntee GP, Nagorney DM, Kvols LK, Moertel CG, Grant CS. Cytoreductive hepatic surgery for neuroendocrine tumors. *Surgery* 1990; 108: 1091-1096 [PMID: 1701060]
35 Jensen RT, Delle Fave G. Promising advances in the treatment of malignant pancreatic endocrine tumors. *N Engl J Med* 2011; 364: 564-565 [PMID: 21306243 DOI: 10.1056/NEJMe1013903]
36 Raymond E, Dahan L, Raoul JL, Bang YJ, Borbath I, Lombard-Bohas C, Valle J, Metrakos P, Smith D, Vinik A, Chen JS, Hörsch D, Hammel P, Wiedenmann B, Van Cutsem E, Patyna S, Lu DR, Blanckmeister C, Chao R, Ruszniewski P. Sunitinib malate for the treatment of pancreatic neuroendocrine tumors. *N Engl J Med* 2011; 364: 501-513 [PMID: 21306237 DOI: 10.1056/NEJMoa1003825]
37 Yao JC, Shah MH, Ito T, Bohas CL, Wolin EM, Van Cutsem E, Hobday TJ, Okusaka T, Capdevila J, de Vries EG, Tomassetti P, Pavel ME, Hoosen S, Haas T, Lincy J, Lebwohl D, Öberg K. Everolimus for advanced pancreatic neuroendocrine tumors. *N Engl J Med* 2011; 364: 514-523 [PMID: 21306238 DOI: 10.1056/NEJMoa1009290]
38 Fenwick SW, Wyatt JI, Toogood GJ, Lodge JP. Hepatic resection and transplantation for primary carcinoid tumors of the liver. *Ann Surg* 2004; 239: 210-219 [PMID: 14745329]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

■同行评价
本文思路清晰, 条理分明, 具有一定的科学价值.

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2013年4月18日; 21(11): 990-995
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

不同来源间充质干细胞在肝病治疗中应用的研究进展

薛红利, 曾维政

■背景资料
肝纤维化及终末期肝脏疾病的治疗缺乏特效药物和手段, 积极探索新的治疗手段是亟待解决的问题, 也是目前肝病领域的热点和难点. 近年来, 干细胞研究在生物医学领域取得丰硕成果, 为肝脏疾病的治疗提供新的契机.

薛红利, 曾维政, 中国人民解放军成都军区总医院消化内科 四川省成都市 610083
薛红利, 硕士, 主要从事慢性肝病的诊断与治疗.
作者贡献分布: 本文综述由薛红利完成; 由曾维政审校.
通讯作者: 曾维政, 教授, 主任医师, 610083, 四川省成都市蓉都大道天回路270号, 中国人民解放军成都军区总医院消化内科. zengweizheng@163.com
电话: 028-86571145
收稿日期: 2013-01-16 修回日期: 2013-02-25
接受日期: 2013-03-14 在线出版日期: 2013-04-18

Advances in the use of mesenchymal stem cells derived from different origins for the treatment of liver diseases

Hong-Li Xue, Wei-Zheng Zeng

Hong-Li Xue, Wei-Zheng Zeng, Department of Gastroenterology, Chengdu Military General Hospital, Chengdu 610083, Sichuan Province, China
Correspondence to: Wei-Zheng Zeng, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Chengdu Military General Hospital, Chengdu 610083, Sichuan Province, China. zengweizheng@163.com
Received: 2013-01-16 Revised: 2013-02-25
Accepted: 2013-03-14 Published online: 2013-04-18

Abstract
Liver diseases are common and frequent diseases that seriously affect human health and consume social resources. Both the absolute number of patients with liver diseases and their relative incidence in China are the highest in the world. In recent years, encouraging achievements have been achieved in stem cell therapy of chronic liver diseases both in China and abroad. Mesenchymal stem cells are a kind of pluripotent stem cells derived from the mesoderm. They exist not only in the bone marrow but also in other tissues, such as peripheral blood, umbilical cord blood, spongy bone, adipose tissue, synovium, and umbilical cord. In this article we review recent advances in the use of bone marrow mesenchymal stem cells, umbilical cord blood mesenchymal stem cells and umbilical cord mesenchymal stem cells for the treatment of liver diseases.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Mesenchymal stem cells; Liver diseases; Bone marrow; Umbilical cord blood; Umbilical cord

Xue HL, Zeng WZ. Advances in the use of mesenchymal stem cells derived from different origins for the treatment of liver diseases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(11): 990-995 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/990.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i11.990

摘要
肝脏疾病是临床的常见病、多发病, 在我国无论是相对发病率还是绝对病例数, 肝脏疾病患者均居世界首位, 是严重危害健康和耗费社会资源的主要疾病之一. 近年来, 国内外有关干细胞治疗慢性肝病的研究成果令人鼓舞, 显示了勃勃生机. 间充质干细胞是来源于发育早期中胚层的一类多能干细胞, 研究证明他不仅存在于骨髓中, 也存在于其他一些组织与器官的间质中, 如外周血、脐血、松质骨、脂肪组织、滑膜和脐带等. 本文就骨髓间充质干细胞、脐血间充质干细胞以及脐带间充质干细胞在治疗肝脏疾病方面的研究作一综述.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 间充质干细胞; 肝脏疾病; 骨髓; 脐血; 脐带

核心提示: 间充质干细胞具有向肝细胞分化的潜能, 脐带间充质干细胞(umbilical cord mesenchymal stem cells, UCMSCs)作为间充质干细胞的新生代表, 具有其他间充质干细胞不可比拟的优势, UCMSCs有望成为肝病治疗领域极具有潜力的种子细胞, 拥有广阔的应用前景.

薛红利, 曾维政. 不同来源间充质干细胞在肝病治疗中应用的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(11): 990-995 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/990.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i11.990

0 引言
肝脏疾病是临床的常见病、多发病, 在我国无论是相对发病率还是绝对病例数, 肝脏疾病患

■同行评议者
朱传武, 主任医师, 江苏省苏州市第五人民医院传染科

者均居世界首位, 是严重危害健康和耗费社会资源的主要疾病之一. 内科治疗各种终末期肝病并无有效药物, 主要有肝脏移植、肝细胞移植和干细胞移植等方法, 但都面临着供体来源困难和免疫排斥等问题, 极大限制了临床发展. 原位肝移植(orthotopic liver transplantation, OLT)虽然是有效的治疗手段, 但由于供体不足、风险较高、免疫排斥、耗资巨大等问题难以广泛开展. 因此寻找OLT的替代疗法尤为迫切. 近年来, 国内外有关干细胞治疗慢性肝病的研究成果令人鼓舞, 显示了勃勃生机. 间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是来源于发育早期中胚层的一类多能干细胞, 在1966年首先由Fridenshteĭn等[1]从骨髓中发现, 以后的研究证明MSCs不仅存在于骨髓中, 也存在于其他一些组织与器官的间质中[2-6], 如外周血、脐血、松质骨、脂肪组织、滑膜和脐带等. 本文就目前研究较多的骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)、脐血间充质干细胞(umbilical cord blood mesenchymal stem cells, UCBMSCs)以及脐带间充质干细胞(umbilical cord mesenchymal stem cells, UCMSCs)在治疗肝病方面的研究作一综述.

1 骨髓间充质干细胞在肝病治疗中研究

1999年, Petersen等[7]首先开展了骨髓来源的干细胞是否具有肝细胞分化潜能的实验研究. 迄今, 已建立了多个体内外诱导BMSCs分化肝细胞的技术体系, 并且亦有多家医院使用BMSCs治疗肝病.

1.1 *实验研究* 体外关于BMSCs分化为肝细胞的研究较多, 很多研究通过在培养基中加入不同的细胞因子组合体外培养[8,9]如肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)和表皮细胞生长因子(epidermal growth factor, EGF), HGF和抑瘤素M(oncostatin M, OSM), 成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)和OSM, FGF-4以及干细胞因子(stem cells factor, SCF)等, 发现BMSCs可向有功能的肝细胞分化, 并具有合成白蛋白、尿素, 储存糖原等的功能. 亦有将基因修饰的BMSCs诱导分化为肝细胞的研究[10]. 同时, 国内外许多学者建立肝纤维化或肝硬化的动物模型, 通过不同方式将BMSCs细胞移植入动物体内, 证实BMSCs可分化为具有功能的肝细胞, 促进肝脏的再生[11,12]. Cho等[13]发现用同种异基因小鼠骨髓中的MSCs, 比用骨髓中其他细胞(如造血干细胞)具有更大的潜能修复受损的肝组织、改善肝功能. 但更多的研究结果否定了上述观点, 多数实验仅发现极低比例的MSCs转化为少量肝细胞或并未找到MSCs分化的肝细胞, 绝大部分向肝星状细胞和肌成纤维细胞分化, 反而促进肝纤维化的进程[14]. 也有学者认为, 移植的BMSCs在体内低营养条件下较难存活; 单纯BMSCs移植可因其非特异性的免疫抑制而加重体内炎症反应, 增加机体感染机会, 使得移植失败甚至引发其他免疫疾病. Fang等[15]发现BMSCs的移植未能有效抑制四氯化碳诱导肝纤维化中晚期小鼠模型的纤维化进展; 周伟等[16]研究的结果显示BMSCs移植可加重四氯化碳诱导大鼠肝纤维化, BMSCs通过上调TGF-β/Smad信号传导通路的TGFβ1和Smad3的表达促进肝纤维化的进展.

目前BMSCs联合基因治疗成为研究的热点, 在体外对BMSCs导入目的基因后再进行移植, 可使目的基因有效并持久表达, 诱导BMSCs向肝细胞分化, 充分发挥BMSCs改善肝纤维化的有益作用, 避开甚至抑制其加重肝纤维化损害的作用, 比简单的移植BMSCs效果更好[17].

1.2 *临床研究* 在临床上, 国内外已有多家医院将BMSCs细胞通过不同的方式移植入肝硬化患者体内. Guo、EI-Ansary、Terai、Nikeghbalian、Sharma等[18-22]都应用自体骨髓干细胞治疗终末期肝病, 经治疗后患者肝功能有一定的改善. Peng等[23]经自体BMSCs移植治疗乙型肝炎引起的肝衰竭患者53例, 短期疗效患者肝功能指标有明显改善, 但是长期观察192 wk, 治疗后患者的肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)发生率一级死亡率与对照组并无统计学差异. 目前关于MSCs治疗肝硬化的研究, 大多处于临床前研究阶段, 且缺乏更长时间的随访, 故其改善肝脏纤维化情况不明, 因此需要更大规模的随机研究及更长时间的随访以观察其确切疗效.

2 脐血间充质干细胞在肝病治疗中的研究

早在2000年, Erices等[24]从脐血中分离获得表达多种间充质祖细胞相关抗原的细胞, 呈成纤维细胞样, PAS(periodic acid-schiff stain)染色阳性, 此类细胞即为UCBMSCs.

2.1 *实验研究* 目前UCBMSCs向肝细胞的分化研究时间较短, 主要是应用细胞因子进行体外诱导分化[25-27], 如HGF、FGF、aFGF、SCF、OSM、白血病抑制因子等多种成分诱导分化

■研发前沿
来源不同的间充质干细胞的生物学特性、分化能力等具有一定的差异, 如何选择干细胞使其可以归巢至靶器官并发挥治疗作用成为研究的重点.

■相关报道
Peng等经自体骨髓间充质干细胞移植治疗肝衰竭患者53例; 杨宏利等通过脐血干细胞移植治疗失代偿期肝硬化患者86例; Bahk等经UCMSCs治疗终末期肝硬化患者51例. 短期疗效均可改善患者肝功能, 提高患者生活质量.

为有功能的肝细胞. Jung等[28]将UCBMSCs移植入四氯化碳所致肝损伤鼠体内, 证实UCBMSCs能提高损伤鼠肝脏功能的改善, 缓解肝纤维化; Shi等[29]的研究发现UCBMSCs移植可以显著提高急性重型肝炎大鼠的生存率, 其机制可能与UCBMSCs细胞转化为肝细胞样细胞相关. Sharma等[30]研究提示UCBMSCs移植入裸鼠体内后增殖并分化为肝样细胞的潜能优于BMSCs.

2.2 临床研究 国内关于脐血干细胞用于临床治疗肝硬化的报道较少, 而国外并无相关报道. 国内杨宏丽等[31]通过脐血干细胞移植治疗失代偿期肝硬化患者86例, 脐血干细胞移植治疗可有效修复肝损伤、改善肝功能, 提高患者的生存质量. 国内亦有其他医院如兰州军区总医院[32]使用脐血干细胞移植治疗肝硬化, 结果均提示有一定的治疗作用. 杜永国等[33]经肝动脉行脐血干细胞移植治疗重症肝炎10例, 结果证实脐血干细胞肝内移植治疗重症肝炎可显著改善患者肝脏合成功能, 短期疗效肯定, 且较为安全. 目前, 仍需大量的实验及临床研究来证实脐血干细胞治疗肝病的疗效, 下一步的重点应集中在UCBMSCs向肝细胞分化的体内研究, 特别是在体内诱导为大量有功能的肝细胞方面, 这样才能给肝功能衰竭的患者带来福音.

3 脐带间充质干细胞在肝病治疗中的研究

脐带中富含造血、间充质、神经及内皮等多种干/祖细胞, 从华尔通氏胶分离得到的基质细胞即为UCMSCs[34]. 研究证明人UCMSCs体外可以分化为脂肪细胞、软骨细胞、骨细胞、心肌细胞、骨骼肌细胞、神经元/神经胶质前体细胞、多巴胺能神经元、内皮细胞, 还能分化为肝细胞[35,36]. 国内外有许多学者对UCMSCs在治疗肝病方面进行了研究.

3.1 实验研究 在体外将UCMSCs分化为肝细胞的研究较多[37-39], 多集中在使用各种细胞因子如HGF、OSM等方面, 均证实UCMSCs具有向肝细胞分化的潜能. 国内外学者分别通过不同途径将UCMSCs移植入动物体内进行研究, 结果均提示人UCMSCs可促进损伤肝脏的修复, 对肝脏损伤或肝纤维化有一定的治疗效果[40-42].

3.2 临床应用 在临床上, 国内有多家医院使用UCMSCs治疗终末期肝硬化, 如何晶等[43]通过肝动脉移植UCMSCs治疗终末期肝硬化患者26例, 结果显示UCMSCs移植可改善患者的肝纤维化程度. 金旭鹏等[44]通过静脉推注UCMSCs治疗失代偿期肝硬化24例, 结果提示UCMSCs移植可显著改善失代偿期肝硬化患者肝功能及临床症状, 并能促进肝脏修复. 而国外仅见一篇文献报道, Bahk等[45]经UCMSCs治疗终末期肝硬化患者51例, 其中46例为Child-Pugh C级、5例为Child-Pugh B级, 治疗后患者肝功能有所改善, 生活质量有一定提高, 而且其中两例患者生存时间已经超过5年.

目前国际上已批准多款干细胞产品上市, 美国FDA 2例, 韩国KFDA 3例, 欧洲EMA、澳洲TGA、加拿大Health Canada各1例, 但主要用于骨组织修复、GVHD、Crohn病及心肌梗死的治疗. 间充质干细胞能否作为药物或干细胞产品用于肝脏疾病的治疗还有待于进一步研究. 而UCMSCs取材方便, 来源广泛, 易于采集, 不受伦理、道德及法律方面的限制, 且脐带中的干/祖细胞较成人骨髓中的干/祖细胞更原始, 有更强的增殖分化能力, 展示了较好的临床应用前景.

4 结论

4.1 组织来源不同的间充质干细胞均有向肝细胞分化的潜能 目前对于骨髓源性的间充质干细胞研究较多, 亦有文献对不同来源的MSCs进行比较. 从相关研究可以推测组织来源不同的间充质干细胞的特性在不同种属间表现出分化能力、增殖特性等方面的差异[35,46-49]. 虽然分化能力有一定的差异, 但相关文献均提示间充质干细胞具有向肝细胞分化的潜能.

4.2 UCMSCs具有诸多优点有望成为肝病治疗中理想的种子细胞 由于BMSCs对患者有创伤且所得细胞数量有限, 限制了他的使用; UCBMSCs所获细胞来源于胎儿脐血, 涉及伦理学的问题, 目前对于他的应用一直是有争议的, 且所获细胞数量较少, 受时间限制等问题需要考虑; UCMSCs作为一种具有多能干细胞特点的细胞, 不但能够成为骨髓MSCs等理想替代物, 而且具有更大的应用潜能. 因为: (1)脐带有更充足的来源, 收集容易, 对供者无任何损伤, 不受任何伦理及法律限制; (2)脐带受胎盘屏障的保护, 其成分被病毒、细菌污染的概率低; (3)UCMSCs的免疫源性更低, 能耐受更大限度上的HLA配型不符; (4)脐带包含丰富的干细胞; (5)UCMSCs体外倍增时间短, 克隆形成率高, 扩增能力强; (6)收集的UCMSCs不仅可做异基因移植的供体, 而且还可将之低温保存数十年, 用于自体移植治疗相关疾病; (7)UCMSCs移植可以治疗急性移植物

抗宿主病[50,51].

因此, UCMSCs作为间充质干细胞的新生代表, 具有其他间充质干细胞不可比拟的优势, 在进一步完善UCMSCs分化研究和应用机制研究的基础上, UCMSCs必将成为肝病治疗中理想的种子细胞之一并会拥有更广阔的应用前景. 我们相信, 随着研究的不断深入, UCMSCs有望成为肝病治疗领域极具有潜力的种子细胞.

5 参考文献

1 Fridenshteĭn AIa, Piatetskiĭ-Shapiro II, Petrakova KV. [Osteogenesis in transplants of bone marrow cells]. *Arkh Anat Gistol Embriol* 1969; 56: 3-11 [PMID: 4903779]

2 Kern S, Eichler H, Stoeve J, Klüter H, Bieback K. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue. *Stem Cells* 2006; 24: 1294-1301 [PMID: 16410387]

3 Zvaifler NJ, Marinova-Mutafchieva L, Adams G, Edwards CJ, Moss J, Burger JA, Maini RN. Mesenchymal precursor cells in the blood of normal individuals. *Arthritis Res* 2000; 2: 477-488 [PMID: 11056678]

4 Nöth U, Osyczka AM, Tuli R, Hickok NJ, Danielson KG, Tuan RS. Multilineage mesenchymal differentiation potential of human trabecular bone-derived cells. *J Orthop Res* 2002; 20: 1060-1069 [PMID: 12382974 DOI: 10.1016/S0736-0266(02)00018-9]

5 Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, Moorman MA, Simonetti DW, Craig S, Marshak DR. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999; 284: 143-147 [PMID: 10102814 DOI: 10.1126/science.284.5411.143]

6 Troyer DL, Weiss ML. Wharton's jelly-derived cells are a primitive stromal cell population. *Stem Cells* 2008; 26: 591-599 [PMID: 18065397 DOI: 10.1634/stemcells.2007-0439]

7 Petersen BE, Bowen WC, Patrene KD, Mars WM, Sullivan AK, Murase N, Boggs SS, Greenberger JS, Goff JP. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science* 1999; 284: 1168-1170 [PMID: 10325227 DOI: 10.1126/science.284.5417.1168]

8 Chivu M, Dima SO, Stancu CI, Dobrea C, Uscatescu V, Necula LG, Bleotu C, Tanase C, Albulescu R, Ardeleanu C, Popescu I. In vitro hepatic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells under differential exposure to liver-specific factors. *Transl Res* 2009; 154: 122-132 [PMID: 19665688 DOI: 10.1016/j.trsl.2009.05.007]

9 罗伟, 肖恩华, 罗建光, 尚全良, 伍玉枝, 李艳辉, 谭艳. 不同浓度肝细胞生长因子及表皮细胞生长因子体外联合诱导兔骨髓间充质干细胞向肝细胞分化. 中国组织工程研究与临床康复 2011; 15: 6727-6731

10 Tan Y, Xiao EH, Xiao LZ, Yuan YH, Ma C, Shang QL, Bian DJ, Li YH, Chen Z, Chang Q. VEGF(165) expressing bone marrow mesenchymal stem cells differentiate into hepatocytes under HGF and EGF induction in vitro. *Cytotechnology* 2012; 64: 635-647 [PMID: 22476563 DOI: 10.1007/s10616-012-9439-0]

11 Dalakas E, Newsome PN, Boyle S, Brown R, Pryde A, McCall S, Hayes PC, Bickmore WA, Harrison DJ, Plevris JN. Bone marrow stem cells contribute to alcohol liver fibrosis in humans. *Stem Cells Dev* 2010; 19: 1417-1425 [PMID: 20025456 DOI: 10.1089/scd.2009.0387]

12 Kaibori M, Adachi Y, Shimo T, Ishizaki M, Matsui K, Tanaka Y, Ohishi M, Araki Y, Okumura T, Nishizawa M, Kwon AH. Stimulation of liver regeneration after hepatectomy in mice by injection of bone marrow mesenchymal stem cells via the portal vein. *Transplant Proc* 2012; 44: 1107-1109 [PMID: 22564637 DOI: 10.1016/j.transproceed.2012.01.088]

13 Cho KA, Ju SY, Cho SJ, Jung YJ, Woo SY, Seoh JY, Han HS, Ryu KH. Mesenchymal stem cells showed the highest potential for the regeneration of injured liver tissue compared with other subpopulations of the bone marrow. *Cell Biol Int* 2009; 33: 772-777 [PMID: 19427913 DOI: 10.1016/j.cellbi.2009.04.023]

14 Baba S, Fujii H, Hirose T, Yasuchika K, Azuma H, Hoppo T, Naito M, Machimoto T, Ikai I. Commitment of bone marrow cells to hepatic stellate cells in mouse. *J Hepatol* 2004; 40: 255-260 [PMID: 14739096]

15 Fang B, Shi M, Liao L, Yang S, Liu Y, Zhao RC. Systemic infusion of FLK1(+) mesenchymal stem cells ameliorate carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in mice. *Transplantation* 2004; 78: 83-88 [PMID: 15257043 DOI: 10.1097/01.TP.0000128326.95294.14]

16 周伟, 陈鹏飞, 吴小翎, 姜蓉, 徐艳华. 骨髓间充质干细胞对实验性肝纤维化大鼠的作用及其机制. 中国生物制品学杂志 2012; 25: 176-180

17 Lee TH, Jawan B, Chou WY, Lu CN, Wu CL, Kuo HM, Concejero AM, Wang CH. Alpha-melanocyte-stimulating hormone gene therapy reverses carbon tetrachloride induced liver fibrosis in mice. *J Gene Med* 2006; 8: 764-772 [PMID: 16508911]

18 Guo XJ, Lin XY, He YZ, Feng XQ, Li FJ, Yao ZQ. Intrahepatic transplantation of autologous bone marrow mononuclear cells in treatment of liver cirrhosis in decompensatory period. *Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research* 2011; 15: 4367-4368

19 EI-Ansary M, Mogawer Sh, Abdel-Aziz I, Abdel-Hamid S. Phase Trial: Mesenchymal Stem Cells Transplantation in End Stage Liver Disease. *Journal of American Science* 2010; 6: 135-144

20 Terai S, Ishikawa T, Omori K, Aoyama K, Marumoto Y, Urata Y, Yokoyama Y, Uchida K, Yamasaki T, Fujii Y, Okita K, Sakaida I. Improved liver function in patients with liver cirrhosis after autologous bone marrow cell infusion therapy. *Stem Cells* 2006; 24: 2292-2298 [PMID: 16778155 DOI: 10.1634/stemcells.2005-0542]

21 Nikeghbalian S, Pournasr B, Aghdami N, Rasekhi A, Geramizadeh B, Hosseini Asl SM, Ramzi M, Kakaei F, Namiri M, Malekzadeh R, Vosough Dizaj A, Malek-Hosseini SA, Baharvand H. Autologous transplantation of bone marrow-derived mononuclear and CD133(+) cells in patients with decompensated cirrhosis. *Arch Iran Med* 2011; 14: 12-17 [PMID: 21194255 DOI: 011141/AIM.004]

22 Sharma S, Kumar L, Mohanty S, Kumar R, Datta Gupta S, Gupta DK. Bone marrow mononuclear stem cell infusion improves biochemical parameters and scintigraphy in infants with biliary atresia. *Pediatr Surg Int* 2011; 27: 81-89 [PMID: 20857300 DOI: 10.1007/s00383-010]

23 Peng L, Xie DY, Lin BL, Liu J, Zhu HP, Xie C, Zheng YB, Gao ZL. Autologous bone marrow mes-

■创新盘点

关于3种间充质干细胞的研究较多, 但是关于不同来源的间充质干细胞在肝病治疗中的应用比较的报道较少, 本文重点在于通过比较得出脐带间充质干细胞在治疗肝病中的优势和价值.

■应用要点

肝纤维化及终末期肝脏疾病的治疗缺乏特效药物和手段, 干细胞治疗为慢性肝病患者带来新的希望.

enchymal stem cell transplantation in liver failure patients caused by hepatitis B: short-term and long-term outcomes. *Hepatology* 2011; 54: 820-828 [PMID: 21608000 DOI: 10.1002/hep.24434]

24 Erices A, Conget P, Minguell JJ. Mesenchymal progenitor cells in human umbilical cord blood. *Br J Haematol* 2000; 109: 235-242 [PMID: 10848804 DOI: 10.1046/j.1365-2141.2000.01986.x]

25 Zhao Q, Ren H, Li X, Chen Z, Zhang X, Gong W, Liu Y, Pang T, Han ZC. Differentiation of human umbilical cord mesenchymal stromal cells into low immunogenic hepatocyte-like cells. *Cytotherapy* 2009; 11: 414-426 [PMID: 19513901 DOI: 10.1080/14653240902849754]

26 韩翠萍, 刘吉勇, 高蕾, 裴庆山, 孙欣欣, 文婷玉. 脐血间充质干细胞的体外扩增及向类肝细胞分化的实验研究. 山东医药 2010; 50: 3-5

27 Kakinuma S, Tanaka Y, Chinzei R, Watanabe M, Shimizu-Saito K, Hara Y, Teramoto K, Arii S, Sato C, Takase K, Yasumizu T, Teraoka H. Human umbilical cord blood as a source of transplantable hepatic progenitor cells. *Stem Cells* 2003; 21: 217-227 [PMID: 12634418]

28 Jung KH, Shin HP, Lee S, Lim YJ, Hwang SH, Han H, Park HK, Chung JH, Yim SV. Effect of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells in a cirrhotic rat model. *Liver Int* 2009; 29: 898-909 [PMID: 19422480 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2009.02031.x]

29 Shi LL, Liu FP, Wang DW. Transplantation of human umbilical cord blood mesenchymal stem cells improves survival rates in a rat model of acute hepatic necrosis. *Am J Med Sci* 2011; 342: 212-217 [PMID: 21642820 DOI: 10.1097/MAJ.0b013e3182112b90]

30 Sharma AD, Cantz T, Richter R, Eckert K, Henschler R, Wilkens L, Jochheim-Richter A, Arseniev L, Ott M. Human cord blood stem cells generate human cytokeratin 18-negative hepatocyte-like cells in injured mouse liver. *Am J Pathol* 2005; 167: 555-564 [PMID: 16049339 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)62997-5]

31 杨宏丽, 于发涛, 李桂杰, 陈自平, 李坤, 徐昌青. 脐血干细胞移植治疗失代偿期肝硬化86例疗效观察. 山东医药 2010; 50: 16-17

32 王方, 张小岗, 张静, 蔡国芳. 脐带血干细胞治疗失代偿期肝硬化1例. 实用肝脏病杂志 2010; 13: 454-455

33 杜永国, 何晶, 周云, 周贵忠, 林洪, 何秀清. 脐血干细胞移植治疗重症肝炎10例近期疗效观察. 山东医药 2010; 50: 70-71

34 Seshareddy K, Troyer D, Weiss ML. Method to isolate mesenchymal-like cells from Wharton's Jelly of umbilical cord. *Methods Cell Biol* 2008; 86: 101-119 [PMID: 18442646 DOI: 10.1016/S0091-679X(08)00006-X]

35 Karahuseyinoglu S, Cinar O, Kilic E, Kara F, Akay GG, Demiralp DO, Tukun A, Uckan D, Can A. Biology of stem cells in human umbilical cord stroma: in situ and in vitro surveys. *Stem Cells* 2007; 25: 319-331 [PMID: 17053211]

36 Weiss ML, Medicetty S, Bledsoe AR, Rachakatla RS, Choi M, Merchav S, Luo Y, Rao MS, Velagaleti G, Troyer D. Human umbilical cord matrix stem cells: preliminary characterization and effect of transplantation in a rodent model of Parkinson's disease. *Stem Cells* 2006; 24: 781-792 [PMID: 16223852 DOI: 10.1634/stemcells.2005-0330]

37 Campard D, Lysy PA, Najimi M, Sokal EM. Native umbilical cord matrix stem cells express hepatic markers and differentiate into hepatocyte-like cells. *Gastroenterology* 2008; 134: 833-848 [PMID: 18243183 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.12.024]

38 任红英, 赵钦军, 刘拥军, 卢士红, 李妍涵, 韩忠朝. 脐带间充质干细胞体外诱导分化为肝细胞样细胞的研究. 山东医药 2008; 48: 24-26

39 Ren HY, Zhao QJ, Xing W, Yang SG, Lu SH, Ren Q, Zhang L, Han ZC. [Differentiation of human umbilical cord derived mesenchymal stem cells into low immunogenic and functional hepatocyte-like cells in vitro]. *Zhongguo Yixue Kexueyuan Xuebao* 2010; 32: 190-194 [PMID: 20450551 DOI: 10.3881/j.issn.1000-503X.2010.02.013]

40 Lin SZ, Chang YJ, Liu JW, Chang LF, Sun LY, Li YS, Luo GH, Liao CH, Chen PH, Chen TM, Lee RP, Yang KL, Harn HJ, Chiou TW. Transplantation of human Wharton's Jelly-derived stem cells alleviates chemically induced liver fibrosis in rats. *Cell Transplant* 2010; 19: 1451-1463 [PMID: 20587139 DOI: 10.3727/096368910X514198]

41 郑学峰, 刘霞. hUCMSCs腹腔移植治疗大鼠急性肝损伤后的病理变化. 解剖科学进展 2012; 18: 345-348

42 Burra P, Arcidiacono D, Bizzaro D, Chioato T, Di Liddo R, Banerjee A, Cappon A, Bo P, Conconi MT, Parnigotto PP, Mirandola S, Gringeri E, Carraro A, Cillo U, Russo FP. Systemic administration of a novel human umbilical cord mesenchymal stem cells population accelerates the resolution of acute liver injury. *BMC Gastroenterol* 2012; 12: 88 [PMID: 22788801 DOI: 10.1186/1471-230X-12-88]

43 何晶, 杜永国, 周云, 周贵忠, 林洪, 贺东平, 何秀清. 肝动脉移植hUCMSCs短期对终末期肝硬化肝纤维指标的影响. 海南医学 2010; 21: 26-27

44 金旭鹏, 李晓飞, 郭莲怡. 人脐带间充质干细胞治疗失代偿期肝硬化的疗效观察. 军医进修学院学报 2012; 33: 757-758

45 Bahk JY, Piao Z, Jung JH, Han H. Treatment of the end Stage Liver Cirrhosis by Human Umbilical Cord Blood Stem Cells: Preliminary Results. *Stem Cells in Clinic and Research* 2011; 469-500

46 Toupadakis CA, Wong A, Genetos DC, Cheung WK, Borjesson DL, Ferraro GL, Galuppo LD, Leach JK, Owens SD, Yellowley CE. Comparison of the osteogenic potential of equine mesenchymal stem cells from bone marrow, adipose tissue, umbilical cord blood, and umbilical cord tissue. *Am J Vet Res* 2010; 71: 1237-1245 [PMID: 20919913 DOI: 10.2460/ajvr.71.10.1237]

47 Vidal MA, Walker NJ, Napoli E, Borjesson DL. Evaluation of senescence in mesenchymal stem cells isolated from equine bone marrow, adipose tissue, and umbilical cord tissue. *Stem Cells Dev* 2012; 21: 273-283 [PMID: 21410356 DOI: 10.1089/scd.2010.0589]

48 Iacono E, Brunori L, Pirrone A, Pagliaro PP, Ricci F, Tazzari PL, Merlo B. Isolation, characterization and differentiation of mesenchymal stem cells from amniotic fluid, umbilical cord blood and Wharton's jelly in the horse. *Reproduction* 2012; 143: 455-468 [PMID: 22274885 DOI: 10.1530/REP-10-0408]

49 Baksh D, Yao R, Tuan RS. Comparison of proliferative and multilineage differentiation potential of human mesenchymal stem cells derived from umbilical cord and bone marrow. *Stem Cells* 2007; 25: 1384-1392 [PMID: 17332507 DOI: 10.1634/stemcells.2006-0709]

50 Wu KH, Chan CK, Tsai C, Chang YH, Sieber M,

Chiu TH, Ho M, Peng CT, Wu HP, Huang JL. Effective treatment of severe steroid-resistant acute graft-versus-host disease with umbilical cord-derived mesenchymal stem cells. *Transplantation* 2011; 91: 1412-1416 [PMID: 21494176 DOI: 10.1097/TP.0b013e31821aba18]

51 Stutchfield BM, Forbes SJ, Wigmore SJ. Prospects for stem cell transplantation in the treatment of hepatic disease. *Liver Transpl* 2010; 16: 827-836 [PMID: 20583084 DOI: 10.1002/lt.22083]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

■同行评价
本文综述3种来源间充质干细胞在肝病治疗方面的基础与临床研究进展, 具有一定的参考意义.

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》正文要求

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2013年4月18日; 21(11): 996-1001
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

组织因子途径抑制因子与肝脏疾病

禹 硕, 冯志杰

■背景资料
组织因子途径抑制因子(TFPI), 通过调节组织因子依赖的外源性凝血途径来发挥抗凝作用. 本文重点综述TFPI在不同肝脏疾病中的变化及临床意义.

禹硕, 冯志杰, 河北医科大学第二医院消化内科 河北省石家庄市 050000
禹硕, 硕士, 主要从事肝硬化门脉高压的相关研究.
作者贡献分布: 禹硕与冯志杰对此文贡献均等; 本综述由禹硕完成; 冯志杰审校.
通讯作者: 冯志杰, 教授, 主任医师, 050000, 河北省石家庄市和平西路215号, 河北医科大学第二医院消化内科.
zhijiefeng2005@126.com
电话: 0311-66002953
收稿日期: 2013-01-23 修回日期: 2013-02-26
接受日期: 2013-03-14 在线出版日期: 2013-04-18

Tissue factor pathway inhibitor and liver diseases

Shuo Yu, Zhi-Jie Feng

Shuo Yu, Zhi-Jie Feng, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 500000, Hebei Province, China
Correspondence to: Zhi-Jie Feng, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, 215 Heping West Road, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China. zhijiefeng2005@126.com
Received: 2013-01-23 Revised: 2013-02-26
Accepted: 2013-03-14 Published online: 2013-04-18

Abstract
Tissue factor pathway inhibitor (TFPI) is a proteinase inhibitor that is synthesized by microvascular endothelial cells and can primarily exert anticoagulant and anti-inflammatory effects. In chronic liver disease and early liver cirrhosis, tissue factors are excessively expressed due to continuous stress, infections and inflammatory stimulation in liver microvascular endothelial cells, which may lead to the rise of TFPI concentration. In severe liver disease and liver cirrhosis complicated with portal vein thrombosis (PVT), the level of TFPI may decline for massive consumption. Recombinant TFPI (rTFPI) can effectively protect against PVT, reduce the mortality of disseminated or diffuse intravascular coagulation and improve inflammation. Understanding of the role of TFPI in liver diseases may provide potential strategy for the prevention and treatment of liver cirrhosis and its complications.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Tissue factor pathway inhibitor; Chronic liver disease; Liver cirrhosis

Yu S, Feng ZJ. Tissue factor pathway inhibitor and liver diseases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(11): 996-1001 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/996.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i11.996

摘要
组织因子途径抑制因子(tissue factor pathway inhibitor, TFPI)是一种丝氨酸蛋白酶抑制物, 主要由微血管内皮细胞合成, 通过调节组织因子依赖的外源性凝血途径来发挥抗凝作用, 并与抗炎、缺血性心脏病及恶性肿瘤等密切相关. 在慢性肝病、肝硬化患者早期, 肝脏微血管内皮细胞受到持续应激、感染和炎性刺激, 组织因子过度表达, TFPI反馈性增高. 在严重肝病或肝硬化并发门静脉血栓形成(portal vein thrombosis, PVT)时, TFPI由于大量消耗而降低. 重组TFPI可预防PVT形成、降低弥散性血管内凝血的死亡率及改善炎症感染, 为临床上预防和治疗肝硬化及并发症提供了新的思路.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 组织因子途径抑制因子; 慢性肝病; 肝硬化

核心提示: 在慢性肝病、肝硬化早期, 组织因子途径抑制因子(tissue factor pathway inhibitor, TFPI)反馈性增高; 在严重肝病或肝硬化并发门静脉血栓形成(portal vein thrombosis, PVT)时, TFPI降低. 重组TFPI可预防肝硬化PVT形成、降低弥散性血管内凝血的死亡率.

禹硕, 冯志杰. 组织因子途径抑制因子与肝脏疾病. 世界华人消化杂志 2013; 21(11): 996-1001 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/996.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i11.996

■同行评议者
秦建民, 主任医师, 上海中医药大学附属普陀医院普外科

0 引言
组织因子介导的外源性凝血过程在炎症和肿瘤等许多疾病的病理生理过程中发挥着重要作用,

组织因子途径抑制因子(tissue factor pathway inhibitor, TFPI)是一种库尼型(Kunitz-type)丝氨酸蛋白酶抑制物, 通过调节组织因子依赖的外源性凝血途径来发挥抗凝作用[1]. TFPI与血栓性疾病、弥散性血管内凝血(disseminated or diffuse intravascular coagulation, DIC)、炎症、休克和恶性肿瘤等密切相关. 肝脏疾病患者, 血液中的凝血因子及其抑制物、纤维蛋白溶解系统的合成和清除都受损, 凝血功能异常的程度取决于肝功能受损的程度, 肝功能衰竭患者可能导致凝血因子缺失, 甚至发生DIC[2-4]. 本文重点综述TFPI在不同肝脏疾病中的变化及临床意义.

1 TFPI的生物学概述

组织因子途径抑制因子, 过去曾称为外源凝血途径抑制物(extrinsic pathway inhibitor, EPI), 脂蛋白相关抑制物(lipoprotein associated coagulation inhibitor, LACI), 如今统称为组织因子途径抑制因子.

TFPI是一种对热相对稳定的单链糖蛋白, 由276个氨基酸构成, 在血浆中以全长或者各种羧基末端的形式存在, 由于信使RNA(mRNA)的选择性剪切, TFPI被转录成3个亚型: TFPIα、TFPIε以及与糖基磷脂酰肌醇(glycosyl-phosphatidyl inositol, GPI)结合的TFPIβ, TFPIα是人类中表达的主要亚型[5-7]. TFPI的半衰期很短(60-120 min), 一般人群血浆中TFPI的浓度差别较大为54-143 ng/mL, 平均为89 ng/mL. 在正常人群中, TFPI的波动很小, 健康男性体育锻炼后TFPI水平轻度增加, 老年人和新生儿血浆TFPI的水平比正常成年人高40%-50%, 妊娠第3个月的孕妇体内TFPI轻度增加, 激素替代治疗的妇女TFPI活性明显降低[8].

TFPI主要由微血管内皮细胞合成[9], 其他细胞如血管平滑肌细胞、巨噬细胞、活化的单核细胞、心肌细胞、肾小球细胞、肝细胞以及血小板、T淋巴细胞等也表达少量的TFPI. Warshawsky等[10]研究发现TFPI主要由肝脏和肾脏清除, TFPI在体内有多种存在方式: 约75%与血管内皮细胞表面的糖蛋白结合, 这一部分TFPI在注射肝素后会释放进入血液循环, 使血浆中TFPI浓度增加2-10倍, 约20%与血浆中脂蛋白结合(3/4与低密度脂蛋白结合, 1/4与高密度脂蛋白结合), 血浆中游离形式的TFPI只约占总TFPI的2.5%, 另有约2.5%TFPI存在于血小板中[11].

TFPI的特征性结构是存在3个串联的Kunitz型抑制功能域, 他的氨基末端有多个羧谷氨酸, 与Ca^{2+}和磷脂结合有关; 他的羧基末端具有多个碱性氨基酸, 与肝素和脂蛋白的结合有关, 并可使得TFPI结合到内皮细胞表面. 当血管壁受到损伤时, 暴露出细胞因子(tissue factor, TF), 后者与活化的Ⅴ因子(FⅤa)结合, 形成TF-FⅤa, 在磷脂和Ca^{2+}存在的情况下迅速激活X因子(FX), 生成活化的X因子(Fxa), 最终形成FXa-TFPI-FⅤa-TF复合体, 从而灭活TF-FⅤa, 因此可以直接抑制凝血的起始阶段来而发挥抗凝作用[12-16].

2 TFPI的生理意义

2.1 抑制血栓形成 TFPI是目前所知的唯一能抑制TF-FⅤa复合物活性的生理性抗凝物质, 在抑制血栓形成中发挥重要作用. 循环中TFPI浓度降低是发生静脉栓塞(venous thromboembolism, VTE)的危险因素. 荷兰莱顿[17](Leiden Thrombophilia Study, LETS)的一项研究发现, 当游离的TFPI水平下降10%时, 深静脉血栓形成的危险性增加, 比值比(oddi ratio, *OR*)为1.7, 可信区间(confidence interval, CI)为1.1-2.6; 与健康对照组比较, 血浆中总TFPI值降低10%时, 儿童发生血栓和脑卒中的风险增加, *OR*值为3.8, CI为2.2-6.6. 另外, 在伴有动脉或静脉血栓形成的年轻成年人群中发现肝素诱导后释放的TFPI水平较低. 122名深静脉血栓形成的患者与126名健康者的对照研究中发现, 深静脉血栓形成患者体内总TFPI水平明显降低. 澳大利亚[18](Austrian Study of Recurrent Venous Thromboembolism, AUREC)的一项前瞻性多中心研究发现, 游离的TFPI水平降低, VET的复发率增加, 相对危险度(relative risk, RR)为2.7, CI为1.0-7.4. 口服避孕药或者应用激素替代治疗的妇女体内TFPI的水平降低, 这些人群中血栓形成的风险性增加, 而TFPI的降低可能在其中发挥重要作用[19]. 移植物或者放入的支架会破坏血管壁, 使得内膜下的TF暴露, 启动外源性凝血过程, 易引发血栓形成, 使放入支架失去作用. 体外实验发现, 在支架或者植入器械表面吸附上重组TFPI(recombinant tissue factor pathway inhibitor, rTFPI)可以降低受损伤血管壁血栓形成, 对涂层的密度进行调整, 使其在不同血管及血流条件下发挥最佳效果, 从而有效的保护植入的支架和器械[20].

2.2 抗炎作用 TFPI通过限制凝血酶的产生而发挥抗炎作用. 由于其抗凝和抗炎活性, 在临床中

■研发前沿
TFPI在血栓性疾病、DIC、炎症、休克和恶性肿瘤等方面的研究较多, 但研究其在肝脏疾病中变化的文章较少. TFPI表达水平的异常与不同肝脏疾病的发生、发展密切相关.

■相关报道
Mosad等发现DIC前期和DIC期患者体内TFPI水平均升高, 认为检测TF/TFPI比值、TFPI浓度, 有助于对DIC做出早期诊断.

已经应用于严重感染的治疗. 对狒狒静脉内输注大肠杆菌, 形成败血症休克的模型, 而rTFPI通过降低纤维蛋白原的消耗及白介素-6(interleukin-6, IL-6)的增长水平, 减弱对细胞损害, 使得对狒狒的救治成功[21]. Van Den Boogaard等[22]在研究在肺炎球菌肺炎的老鼠模型中发现, rTFPI联合头孢曲松钠组对减弱肺炎链球菌感染所致的血液凝固效果强于单独使用头孢曲松钠组, rTFPI可以抑制中性粒细胞在肺组织中的积聚, 在未用抗生素治疗组中rTFPI还可以减低肺组织和血浆中IL-6、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)、单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)和巨噬细胞炎性蛋白-2(macrophage inflammatory protein-2, MIP-2)等细胞因子和趋化因子的水平. Maroney等[21]也发现在肺炎球菌肺炎的老鼠模型中rTFPI具有抗炎、抗凝等作用.

2.3 其他作用 Balasenthil等[23]研究发现, 胰腺癌患者体内TFPI水平明显升高, 而手术切除肿瘤后, TFPI恢复到正常水平, 认为TFPI水平可以作为胰腺癌的生物学标志, 并可作为手术后随访的预测指标. 在结肠癌、胃癌以及乳腺癌中TFPI的水平均升高, 其水平的高低与疾病的发展相关[24,25]. 另外, 在缺血性心肌病, 心肌梗死、高脂血症和糖尿病中也伴随着TFPI水平升高, TFPI与血胆固醇水平呈正相关, 并可以用来衡量糖尿病患者血管病变的严重性[8].

3 肝脏疾病和TFPI

肝脏在原发性和继发性止血方面都发挥重要的作用[26]. 肝脏疾病患者, 血液凝血因子及其抑制物、纤维蛋白溶解系统的合成和清除都受损, 肝脏疾病患者在促凝因子及抗凝因子之间建立起复杂的平衡关系, 但这个新的平衡很不稳定, 易受到很多因素的影响, 如门脉高压、内毒素血症及肾功能衰竭等, 引起凝血功能异常, 从而容易引发出血或血栓形成[27-31].

3.1 慢性肝病 慢性肝病患者, 由于微血管内皮细胞损伤和持续应激, 体内TFPI明显升高[2]. IL-1、TNF-α等可刺激单核细胞、血管内皮细胞等表达TF, 使TF与TFPI的比值上调. TFPI主要由肝脏和肾脏清除, 肝病患者多伴有肝功能或肾功能异常, 对TFPI清除受限, TFPI半衰期延迟, 在血浆中浓度升高. Bajaj等[32]认为肝病患者存在继发性低密度脂蛋白水平降低, 使得与之结合的TFPI减少, 引起游离的TFPI增多.

3.2 肝硬化 肝硬化的特点是肝细胞受到持续的刺激不断再生, 导致微环境中炎症反应和组织纤维化[33]. 有研究发现[34], 肝硬化患者TFPI的含量2倍增加, 这与微血管持续应激及血小板聚集有关, TF过度表达, TFPI反馈性增高. 但是当肝脏组织受到严重损害时, TFPI由于大量消耗而减少. 肝硬化易并发出血、门静脉血栓形成(portal vein thrombosis, PVT)等, 使得TFPI浓度受到众多因素的影响.

肝硬化食管静脉曲张破裂出血患者很容易并发细菌感染, 出血48 h后约22%的患者存在细菌感染, 而出血后7-14 d, 细菌感染率会增加35%到66%[35]. 由于门体分流, 使得过度繁殖的肠道细菌很容易发生易位进入血液循环, 形成内毒素血症[36]. 内毒素激活单核细胞并加速其释放促炎症反应的细胞因子, 如IL-1、IL-6、TNF-α等因子水平增高. 有研究应用聚合酶链反应分析TF mRNA, 发现TF仅在内毒素>15 pg/L时才表达, 这一实验证实内毒素能增强TF的表达, 从而激活凝血, 引起TFPI反馈性增高[35]. TF-FⅦa, FXa和凝血酶及各种蛋白酶激活受体上的蛋白酶激活受体结合, 发生细胞内信号传导, 导致促炎症因子和化学物质增多. TFPI在炎症所致的凝血系统激活中的调节作用还不是很清楚, 实验发现给予rTFPI(明显高于生理血浆浓度)可以抑制炎症所致的凝血酶的产生, 提示高浓度的TFPI可以调节TF介导的凝血过程[37]. 在人的内毒素血症中, rTFPI抑制凝血活性是剂量依赖性的, 一个二期临床实验的研究发现, 与对照组比较, rTFPI组可以降低严重脓毒血症患者的死亡率[12].

PVT是肝硬化过程中一个常见并发症, 肝硬化代偿期发病率为0.6%-16.0%, 但是肝硬化失代偿期特别是肝癌患者发病率明显增加, 大约为35%[38]. 肝硬化合并PVT的原因并不十分清楚, 先天性、获得性、局部或者全身因素可以相互作用使得门静脉血流量减少, 内皮系统损伤以及凝血功能紊乱从而引发血栓形成, 局部因素可能是通过内皮细胞的损害来触发血栓的形成[39-41]. 腹部手术特别是门体分流和脾切除术后急性PVT的发生率在0.7%-80.0%[42]. 内毒素血症也可能通过激活凝血系统而促进PVT形成[43]. Oksüzoğlu等[44]分别检测健康组、肝硬化组以及肝硬化合并PVT组人群中TFPI浓度, 结果显示, 在肝硬化Child-Pugh C级患者和肝硬化合并PVT患者TFPI水平明显降低, 认为TFPI浓度在肝硬

化早期可能升高或者不变, 但在晚期逐渐下降, 并且TFPI浓度降低可能在肝硬化合并PVT形成中发挥重要作用. 国内的研究也发现[45], 18例合并PVT组患者血浆中TFPI较无PVT组患者降低, 可能机制为PVT组患者由于TF的过度表达, 使TFPI大量耗竭, 从而并发血栓形成. 输入rTFPI可以防止或减缓血栓形成, 输入肝素促进血管内皮细胞释放TFPI的抗栓作用也已经得到证实, 这为肝硬化合并PVT的防治提供了新的依据.

3.3 终末期肝病 在终末期肝病患者, 引起消耗性凝血功能紊乱, 甚至可能发展成DIC, 而外源性凝血途径在DIC中起关键作用. 关于TFPI在DIC中的意义存在着争议. 国内研究发现, 在DIC前期TF的合成和释放增加, 但TFPI浓度与TF升高并不同步, 仅在DIC期升高, 导致DIC前期TF/TFPI比值增高, TFPI对TF抑制作用不足, 有利于DIC的发生和发展[46]. Prins等[47]研究认为DIC患者中TFPI抗原及其活性、TFPI-FXa复合物的水平还很不确定, 感染会使肝脏血流量降低, TFPI有自身的补偿性合成, 使得血浆中TFPI水平上升. 因此, 尽管理论预期应该下降, 但DIC中TFPI上升是可能的. Mosad等[48]对144例DIC前期和32例DIC期患者体内TFPI进行研究, 发现DIC前期和DIC期患者体内TFPI水平均升高, 认为检测TF/TFPI比值、TFPI浓度, 有助于对DIC做出早期的诊断, 防止DIC的发生. 凝血酶在血液中含量高于TFPI, 并于后者竞争性结合在FXa的活性部位, 所以一旦FXa与FVa结合形成凝血酶原复合物, 就会减弱TFPI的抑制作用. 利用rTFPI来抑制TF-FVⅡa的凝血过程, 已经应用在DIC的各种动物模型中, 在狒狒的动物模型中已经证实, rTFPI可以降低死亡率和血栓形成[12].

4 结论

在肝脏疾病的不同发展过程中, TFPI浓度可能发生变化. 血浆中TFPI水平的变化有助于推测肝病患者病情的严重程度及预后. 在慢性肝病、肝硬化患者早期, 肝脏微血管内皮细胞受到持续应激、感染和炎性刺激, TF过度表达, TFPI反馈性增高, 但是当严重肝病或肝硬化并发PVT时, TFPI由于大量消耗而降低. rTFPI可预防肝硬化PVT形成、降低DIC的死亡率及改善炎症反应, 为临床上预防和治疗肝硬化及其并发症提供新的思路.

■应用要点

血浆中TFPI水平的变化有助于推测不同肝病患者病情的严重程度及预后, 为临床上预防和治疗肝硬化及并发症提供了新的思路.

5 参考文献

1 Adams M. Tissue factor pathway inhibitor: new insights into an old inhibitor. *Semin Thromb Hemost* 2012; 38: 129-134 [PMID: 22422327 DOI: 10.1055/s-0032-1301410]

2 Mannucci PM, Tripodi A. Hemostatic defects in liver and renal dysfunction. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2012; 2012: 168-173 [PMID: 23233577 DOI: 10.1182/asheducation-2012.1.168]

3 Ditisheim S, Goossens N, Spahr L, Hadengue A. [Coagulation and cirrhosis: new insight]. *Rev Med Suisse* 2012; 8: 1652, 1654-1656 [PMID: 22988724]

4 Saray A, Mesihovic R, Vanis N, Gornjakovic S, Prohic D. Clinical significance of haemostatic tests in chronic liver disease. *Med Arh* 2012; 66: 231-235 [PMID: 22919876 DOI: 10.5455/medarh.2012.66.231-235]

5 Stavik B, Tinholt M, Sletten M, Skretting G, Sandset PM, Iversen N. TFPIα and TFPIβ are expressed at the surface of breast cancer cells and inhibit TF-FVIIa activity. *J Hematol Oncol* 2013; 6: 5 [PMID: 23320987 DOI: 10.1186/1756-8722-6-5]

6 Broze GJ, Girard TJ. Tissue factor pathway inhibitor: structure-function. *Front Biosci* 2012; 17: 262-280 [PMID: 22201743 DOI: 10.2741/3926]

7 Girard TJ, Tuley E, Broze GJ. TFPIβ is the GPI-anchored TFPI isoform on human endothelial cells and placental microsomes. *Blood* 2012; 119: 1256-1262 [PMID: 22144186 DOI: 10.1182/blood-2011-10-388512]

8 Lwaleed BA, Bass PS. Tissue factor pathway inhibitor: structure, biology and involvement in disease. *J Pathol* 2006; 208: 327-339 [PMID: 16261634 DOI: 10.1002/path.1871]

9 Holroyd EW, White TA, Pan S, Simari RD. Tissue factor pathway inhibitor as a multifunctional mediator of vascular structure. *Front Biosci* (Elite Ed) 2012; 4: 392-400 [PMID: 22201881]

10 Warshawsky I, Bu G, Mast A, Saffitz JE, Broze GJ, Schwartz AL. The carboxy terminus of tissue factor pathway inhibitor is required for interacting with hepatoma cells in vitro and in vivo. *J Clin Invest* 1995; 95: 1773-1781 [PMID: 7706485 DOI: 10.1172/JCI117855]

11 龙江. 组织因子途径抑制物的生理意义. 中国临床研究 2010; 23: 1145-1148

12 Ott I. Inhibitors of the initiation of coagulation. *Br J Clin Pharmacol* 2011; 72: 547-552 [PMID: 21392058 DOI: 10.1111/j.1365-2125.2011.03960.x]

13 Zakai NA, Lutsey PL, Folsom AR, Heckbert SR, Cushman M. Total tissue factor pathway inhibitor and venous thrombosis. The Longitudinal Investigation of Thromboembolism Etiology. *Thromb Haemost* 2010; 104: 207-212 [PMID: 20431849 DOI: 10.1160/TH09-10-0693]

14 Vadivel K, Bajaj SP. Structural biology of factor VIIa/tissue factor initiated coagulation. *Front Biosci* 2012; 17: 2476-2494 [PMID: 22652793 DOI: 10.2741/4066]

15 Petersen LC. Hemostatic properties of a TFPI antibody. *Thromb Res* 2012; 129 Suppl 2: S44-S45 [PMID: 22405586 DOI: 10.1016/j.thromres.2012.02.030]

16 Peraramelli S, Suylen DP, Rosing J, Hackeng TM. The Kunitz 1 and Kunitz 3 domains of tissue factor pathway inhibitor are required for efficient inhibition of factor Xa. *Thromb Haemost* 2012; 108: 266-276 [PMID: 22627666 DOI: 10.1160/TH11-12-0902]

17 Kasthuri RS, Glover SL, Boles J, Mackman N. Tissue factor and tissue factor pathway inhibitor as key regulators of global hemostasis: measurement of their levels in coagulation assays. *Semin Thromb*

■同行评价

本文针对TFPI生物学作用以及在不同肝脏疾病(慢性肝病、肝硬化和终末期肝病)中的作用进行逐一阐述, 为进一步深入研究TFPI在肝脏疾病中的作用提供了较好的理论基础.

Hemost 2010; 36: 764-771 [PMID: 20978997 DOI: 10.1055/s-0030-1265293]

18 Hoke M, Kyrle PA, Minar E, Bialonzcyk C, Hirschl M, Schneider B, Kollars M, Weltermann A, Eichinger S. Tissue factor pathway inhibitor and the risk of recurrent venous thromboembolism. *Thromb Haemost* 2005; 94: 787-790 [PMID: 16270631]

19 Bladbjerg EM, Madsen JS, Kristensen SR, Abrahamsen B, Brixen K, Mosekilde L, Jespersen J. Effect of long-term hormone replacement therapy on tissue factor pathway inhibitor and thrombin activatable fibrinolysis inhibitor in healthy postmenopausal women: a randomized controlled study. *J Thromb Haemost* 2003; 1: 1208-1214 [PMID: 12871321 DOI: 10.1046/j.1538-7836.2003.00281.x]

20 Zaman FS, Mast AE, Hall CL. Evaluating surface bound rTFPI through an in vitro model of vessel wall injury. *Thromb Res* 2011; 127: 149-153 [PMID: 21195461 DOI: 10.1016/j.thromres.2010.11.009]

21 Maroney SA, Mast AE. Tissue factor pathway inhibitor and bacterial infection. *J Thromb Haemost* 2011; 9: 119-121 [PMID: 21210950 DOI: 10.1111/j.1538-7836.2010.04111.x]

22 Van Den Boogaard FE, Brands X, Schultz MJ, Levi M, Roelofs JJ, Van 't Veer C, Van Der Poll T. Recombinant human tissue factor pathway inhibitor exerts anticoagulant, anti-inflammatory and antimicrobial effects in murine pneumococcal pneumonia. *J Thromb Haemost* 2011; 9: 122-132 [PMID: 21029363 DOI: 10.1111/j.1538-7836.2010.04089.x]

23 Balasenthil S, Chen N, Lott ST, Chen J, Carter J, Grizzle WE, Frazier ML, Sen S, Killary AM. A migration signature and plasma biomarker panel for pancreatic adenocarcinoma. *Cancer Prev Res* (Phila) 2011; 4: 137-149 [PMID: 21071578 DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-10-0025]

24 Stavik B, Skretting G, Olstad OK, Sletten M, Dehli Vigeland M, Sandset PM, Iversen N. TFPI alpha and beta regulate mRNAs and microRNAs involved in cancer biology and in the immune system in breast cancer cells. *PLoS One* 2012; 7: e47184 [PMID: 23071754 DOI: 10.1371/journal.pone.0047184]

25 Sierko E, Wojtukiewicz MZ, Zimnoch L, Kisiel W. Expression of tissue factor pathway inhibitor (TFPI) in human breast and colon cancer tissue. *Thromb Haemost* 2010; 103: 198-204 [PMID: 20062932 DOI: 10.1160/TH09-06-0416]

26 Reverter JC. Abnormal hemostasis tests and bleeding in chronic liver disease: are they related? Yes. *J Thromb Haemost* 2006; 4: 717-720 [PMID: 16634734 DOI: 10.1111/j.1538-7836.2006.01887.x]

27 Chen J, Duan ZP, Bai L, Zhao J, Ding M, Tong XY, Cong YL. [Changing characteristic of blood coagulation factors and their correlation with blood coagulation status in different hepatic diseases]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2012; 20: 206-210 [PMID: 22475141 DOI: 10.3760/cma.j.issn]

28 Kavanagh C, Shaw S, Webster CR. Coagulation in hepatobiliary disease. *J Vet Emerg Crit Care* (San Antonio) 2011; 21: 589-604 [PMID: 22316251 DOI: 10.1111/j.1476-4431.2011.00691.x]

29 Wicklund BM. Bleeding and clotting disorders in pediatric liver disease. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2011; 2011: 170-177 [PMID: 22160030 DOI: 10.1182/asheducation-2011.1.170]

30 Prelipcean CC, Fierbinteanu-Braticevici C, Drug VL, Lăcătuşu C, Mihai B, Mihai C. [Liver cirrhosis-procoagulant stasis]. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi* 2011; 115: 678-685 [PMID: 22046771]

31 Tripodi A, Mannucci PM. The coagulopathy of chronic liver disease. *N Engl J Med* 2011; 365: 147-156 [PMID: 21751907 DOI: 10.1056/NEJMra1011170]

32 Bajaj MS, Kuppuswamy MN, Saito H, Spitzer SG, Bajaj SP. Cultured normal human hepatocytes do not synthesize lipoprotein-associated coagulation inhibitor: evidence that endothelium is the principal site of its synthesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990; 87: 8869-8873 [PMID: 2247459 DOI: 10.1073/pnas.87.22.8869]

33 Pinzani M, Rosselli M, Zuckermann M. Liver cirrhosis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2011; 25: 281-290 [PMID: 21497745 DOI: 10.1016/j.bpg.2011.02.009]

34 Van Thiel DH, Farr DE, Mindikoglu AL, Todo A, George MM. Recombinant human factor VIIa-induced alterations in tissue factor and thrombomodulin in patients with advanced liver cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20: 882-889 [PMID: 15946135 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2005.03761.x]

35 Basili S, Raparelli V, Violi F. The coagulopathy of chronic liver disease: is there a causal relationship with bleeding? Yes. *Eur J Intern Med* 2010; 21: 62-64 [PMID: 20206871 DOI: 10.1016/j.ejim.2010.01.005]

36 Lata J, Jurankova J, Kopacova M, Vitek P. Probiotics in hepatology. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 2890-2896 [PMID: 21734800 DOI: 10.3748/wjg.v17.i24.2890]

37 Levi M. The coagulant response in sepsis and inflammation. *Hamostaseologie* 2010; 30: 10-12, 14-16 [PMID: 20162247]

38 Dănilă M, Sporea I, Popescu A, Sirli R, Sendroiu M. The value of contrast enhanced ultrasound in the evaluation of the nature of portal vein thrombosis. *Med Ultrason* 2011; 13: 102-107 [PMID: 21655535]

39 Amitrano L, Guardascione MA. Management of portal vein thrombosis in cirrhotic patients. *Mediterr J Hematol Infect Dis* 2009; 1: e2009014 [PMID: 21415954 DOI: 10.4084/MJHID.2009.014]

40 Ponziani FR, Zocco MA, Garcovich M, D'Aversa F, Roccarina D, Gasbarrini A. What we should know about portal vein thrombosis in cirrhotic patients: a changing perspective. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 5014-5020 [PMID: 23049208 DOI: 10.3748/wjg.v18.i36.5014]

41 García-Gutiérrez M, Luque-Márquez R, Rodríguez-Suárez S. [Portal vein thrombosis associated with biliary tract infection]. *Gastroenterol Hepatol* 2012; 35: 644-648 [PMID: 22609347 DOI: 10.1016/j.gastrohep.2012.03.011]

42 Vecchio R, Cacciola E, Cacciola RR, Marchese S, Intagliata E. Portal vein thrombosis after laparoscopic and open splenectomy. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 2011; 21: 71-75 [PMID: 21190480 DOI: 10.1089/lap.2010.0325]

43 Violi F. How to concile bleeding and thrombotic tendency in liver cirrhosis? *J Thromb Haemost* 2006; 4: 2065-2066 [PMID: 16961617 DOI: 10.1111/j.1538-7836.2006.02079.x]

44 Oksüzoğlu G, Simsek H, Haznedaroğlu IC, Kirazli S. Tissue factor pathway inhibitor concentrations in cirrhotic patients with and without portal vein thrombosis. *Am J Gastroenterol* 1997; 92: 303-306 [PMID: 9040211]

45 梁坚, 武灵达, 杨勤. 肝硬化患者血中组织因子途径抑制物及脂蛋白变化的研究. 临床肝胆病杂志 2001; 17: 239-240

46 段朝霞, 杨林花. TF、TFPI、t-PA、PAI-1在DIC和DIC前期的检测及意义探讨. 首都医科大学学报 2008; 29: 146-148
47 Prins M, Schellens CJ, van Leeuwen MW, Rothuizen J, Teske E. Coagulation disorders in dogs with hepatic disease. *Vet J* 2010; 185: 163-168 [PMID: 19487141 DOI: 10.1016/j.tvjl.2009.05.009]
48 Mosad E, Elsayh KI, Eltayeb AA. Tissue factor pathway inhibitor and P-selectin as markers of sepsis-induced non-overt disseminated intravascular coagulopathy. *Clin Appl Thromb Hemost* 2011; 17: 80-87 [PMID: 19689998 DOI: 10.1177/1076029609344981]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》出版流程

本刊讯 《世界华人消化杂志》[ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569]是一份同行评议性和开放获取(open access, OA)的旬刊, 每月8、18、28号按时出版. 具体出版流程介绍如下:

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

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

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

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

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

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

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

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

《世界华人消化杂志》从收稿到发行每一步都经过严格审查, 保证每篇文章高质量出版, 是消化病学专业人士发表学术论文首选的学术期刊之一. 为保证作者研究成果及时公布, 《世界华人消化杂志》保证每篇文章四月内完成.

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2013年4月18日; 21(11): 1002-1007
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

隔药饼灸对功能性胃肠病肝郁脾虚模型大鼠胃肠激素及胃肠动力的影响

刘未艾, 郁保生, 常小荣, 刘 密, 章海凤, 岳增辉

■背景资料
功能性胃肠病(FGIDs)是消化内科常见的疾病, 该病的病因和发病机制多考虑与精神心理因素和胃肠动力障碍有关, 目前西医采取对症治疗, 无特效治疗方案, 而灸法作为治疗FGIDs的优势病种获得满意的疗效.

刘未艾, 湖南中医药大学第二附属医院针灸脑病科 湖南省长沙市 410005
郁保生, 湖南中医药大学中医学院 湖南省长沙市 410007
常小荣, 刘密, 岳增辉, 湖南中医药大学针灸推拿学院 湖南省长沙市 410007
章海凤, 湖南中医药大学 湖南省长沙市 410007
刘未艾, 在读博士, 副主任医师, 主要从事针灸治病机制的研究.
国家973计划理论专项课题基金资助项目, No. 2009CB522904
国家自然科学基金课题基金资助项目, Nos. 81173326, 30973802
长沙市科技计划重点基金资助项目, No. K1005020-31
湖南省高校创新平台开放基金资助项目, No.12K087
高等学校博士学科点专项科研基金资助项目, No. 20124323110001
湖南省科技计划基金资助项目, No. 2011SK3095
作者贡献分布: 此课题由郁保生、常小荣与刘密设计; 动物模型制作和指标检测分析由刘未艾、章海凤及岳增辉完成; 论文写作由刘未艾与常小荣完成.
通讯作者: 郁保生, 教授, 410007, 湖南省长沙市韶山中路113号, 湖南中医药大学针灸推拿学院. ybs1955@126.com
电话: 0731-88458072
收稿日期: 2012-08-22 修回日期: 2013-01-17
接受日期: 2013-03-21 在线出版日期: 2013-04-18

Influence of herbal-cake-separated-moxibustion on gastrointestinal hormones and gastrointestinal motility in rats with functional gastrointestinal disorders and syndrome of liver stagnation and spleen deficiency

Wei-Ai Liu, Bao-Sheng Yu, Xiao-Rong Chang, Mi Liu, Hai-Feng Zhang, Zeng-Hui Yue

Wei-Ai Liu, Department of Acupuncture-Encephalopathy, the Second Affiliated Hospital of Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410005, Hunan Province, China
Bao-Sheng Yu, the College of Traditional Chinese Medicine, Hunan University of TCM, Changsha 410007, Hunan Province, China
Xiao-Rong Chang, Mi Liu, Zeng-Hui Yue, College of Acu-moxibustion and Massage, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410007, Hunan Province, China
Hai-Feng Zhang, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410007, Hunan Province, China
Supported by: the National Key Basic Research Program ("973" Program), No. 2009CB52290; the National Natural Science Foundation of China, Nos. 81173326 and 30973802; the Key Science and Technology Program of Changsha, No. K1005020-31; the Hunan Provincial Colleges and Universities Innovation Platform Open Fund Project, No. 12K087; the Higher School Specialized Research Fund for the Doctoral Program, No. 20124323110001; the Hunan Science and Technology Program, No. 2011SK3095
Correspondence to: Bao-Sheng Yu, Professor, College of Traditional Chinese Medicine, Hunan University of TCM, 113 Shaoshan Middle Road, Changsha 410007, Hunan Province, China. ybs1955@126.com
Received: 2012-08-22 Revised: 2013-01-17
Accepted: 2013-03-21 Published online: 2013-04-18

Abstract

AIM: To observe the influence of herbal-cake-separated moxibustion on gastric emptying, small intestinal transition and gastrointestinal hormones in rats with functional gastrointestinal disorders due to syndrome of liver stagnation and spleen deficiency and to explore the possible mechanism underlying the therapeutic effects of herbal-cake-separated-moxibustion against functional gastrointestinal disorders.

METHODS: Sixty SD rats were randomly and equally divided into five groups: blank group, model group, herbal-cake-separated-moxibustion group, Xiaoyaosan group and domperidone group. Except for the blank group, the other four groups underwent modeling by applying chronic restraint stress + excessive fatigue + irregular food for 21 consecutive days. The herbal-cake-separated-moxibustion group underwent herbal cake separated moxibustion for 14 d, while the Xiaoyaosan group and domperidone group were given Xiaoyaosan and domperidone by gavage for the same duration, respectively. At the end of the experiment, gastric emptying rate and small intestinal transit rate were determined, and serum levels of motilin (MTL), gastrin (GAS) and vasoactive intestinal peptide (VIP) were measured by enzyme-linked immunosorbent assay.

RESULTS: Serum VIP level and gastric emptying rate were significantly lower in the herbal-cake-separated-moxibustion group, Xiaoyaosan group and domperidone group than in the mod-

■同行评议者
郑培永, 副教授, 上海中医药大学脾胃病研究所, 上海中医药大学附属龙华医院消化内科

el group (VIP: 155.71 pg/mL ± 14.66 pg/mL, 151.79 pg/mL ± 11.46 pg/mL, 147.03 pg/mL ± 22.16 pg/mL *vs* 170.55 pg/mL ± 16.83 pg/mL, all $P < 0.05$ or 0.01; gastric residual rate: 31.13% ± 16.62%, 35.55% ± 15.54%, 30.79% ± 12.03% *vs* 49.83% ± 11.25%, all $P < 0.01$), while serum levels of MTL and GAS and small intestinal transit rate were significantly higher in the three treatment groups than in the model group (MTL: 475.78 pg/mL ± 77.27 pg/mL, 458.24 pg/mL ± 63.02 pg/mL, 453.95 pg/mL ± 54.04 pg/mL *vs* 397.93 pg/mL ± 48.77 pg/mL, all $P < 0.05$ or 0.01; GAS: 67.12 pg/mL ± 9.08 pg/mL, 67.15 pg/mL ± 8.75 pg/mL, 64.57 pg/mL ± 8.68 pg/mL *vs* 57.34 pg/mL ± 3.39 pg/mL, all $P < 0.01$; small intestinal transit rate: 60.19% ± 6.99%, 60.55% ± 7.92%, 62.04% ± 6.50% *vs* 51.78% ± 5.57%, all $P < 0.01$). There were no significant differences in the above parameters among the three groups (all $P > 0.05$).

CONCLUSION: Herbal cake-separated-moxibustion can promote gastric emptying and small intestinal transit possibly by increasing serum levels of MTL and GAS and reducing serum level of VIP.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Herbal-cake-separated-moxibustion; Functional gastrointestinal disorders; Motilin; Gastrin; Vasoactive intestinal peptide; Gastric emptying; Small intestinal transit

Liu WA, Yu BS, Chang XR, Liu M, Zhang HF, Yue ZH. Influence of herbal-cake-separated-moxibustion on gastrointestinal hormones and gastrointestinal motility in rats with functional gastrointestinal disorders and syndrome of liver stagnation and spleen deficiency. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(11): 1002-1007 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1002.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i11.1002

摘要

目的: 观察隔药饼灸对功能性胃肠病(functional gastrointestinal disorders, FGIDs)肝郁脾虚模型大鼠胃肠激素及胃肠动力的影响, 探讨隔药饼灸治疗FGIDs的可能作用机制.

方法: 将60只SD大鼠随机分为空白组、模型组、隔药饼灸组、逍遥散组和多潘立酮组5组, 每组12只, 除空白组外其余4组采用复合病因造模法(慢性束缚应激+过度疲劳+饮食失节)造模, 连续21 d; 再按被试因素施加方法每天进行隔药饼灸和逍遥散、多潘立酮灌胃14 d. 实验结束后观测大鼠胃排空率、小肠推进率, 取血清用ELISA法检测胃动素(motilin, MTL)、胃泌素(gastrin, Gas)和血管活性相关肠肽(vasoactive intestinal peptide, VIP)的水平.

结果: 隔药饼灸组、逍遥散组与多潘立酮组大鼠MTL、GAS和小肠推进率明显高于模型组, VIP含量和胃残留率明显低于模型组, 差异均有高度统计学意义(MTL含量475.78 pg/mL±77.27 pg/mL, 458.24 pg/mL±63.02 pg/mL, 453.95 pg/mL±54.04 pg/mL *vs* 397.93 pg/mL±48.77 pg/mL, $P<0.05$ or $P<0.01$, GAS含量67.12 pg/mL±9.08 pg/mL, 67.15 pg/mL±8.75 pg/mL, 64.57 pg/mL±8.68 pg/mL *vs* 57.34 pg/mL±3.39 pg/mL, $P<0.01$, 小肠推进率60.19%±6.99%, 60.55%±7.92%, 62.04%±6.50% *vs* 51.78%±5.57%, $P<0.01$, VIP含量155.71 pg/mL±14.66 pg/mL, 151.79 pg/mL±11.46 pg/mL, 147.03 pg/mL±22.16 pg/mL *vs* 170.55 pg/mL±16.83 pg/mL, $P<0.05$ or $P<0.01$, 胃残留率31.13%±16.62%, 35.55%±15.54%, 30.79%±12.03% *vs* 49.83%±11.25%, $P<0.01$), 但3组间比较差异无统计学意义($P>0.05$).

结论: 隔药饼灸组能和逍遥散组、多潘立酮组一样通过升高血清中MTL和GAS, 降低VIP的水平从而达到促进胃排空和小肠推进的作用, 这可能是其作用机制之一.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 隔药饼灸; 功能性胃肠病; 胃动素; 胃泌素; 血管活性相关肠肽; 胃排空; 小肠推进

核心提示: 隔药饼灸能和逍遥散组与多潘立酮一样, 通过升高血清中胃动素和胃泌素, 降低血管活性相关肠肽的水平从而达到促进胃排空和小肠推进的作用, 为临床应用隔药饼灸治疗功能性胃肠病肝郁脾虚提供了理论和实验依据.

刘未艾, 郁保生, 常小荣, 刘密, 章海凤, 岳增辉. 隔药饼灸对功能性胃肠病肝郁脾虚模型大鼠胃肠激素及胃肠动力的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(11): 1002-1007 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1002.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i11.1002

■研发前沿
目前针对灸法治疗FGIDs的临床研究较多, 通过动物实验研究其机制的报道较少, 因此对灸法的疗效缺少客观公认的评价.

0 引言

功能性胃肠病(functional gastrointestinal disorders, FGIDs)是指具有腹胀、腹痛、腹泻及便秘等消化系症状, 但缺乏器质性疾病(如胃炎、肠炎等)或其他证据的一组疾病. 流行病学调查显

■相关报道
近年来许多学者认为胃肠动力障碍是FGIDs的主要病理基础, 精神心理因素参与被认为在此类疾病发生和发展中起重要作用, 并与胃肠动力障碍相关. 胡淑娟等证实了FD胃排空延长与胃动素(MTL)分泌下降有关, 其促进胃肠动力的作用机制可能是通过刺激胃窦部及十二指肠胃动素分泌细胞, 促进MTL的分泌, 提高大鼠血浆中MTL含量实现的.

示FGIDs发病率高, 已成为困扰人们生活及工作的一大疾病[1-3]. 目前认为FGIDs是一种生物-心理-社会病证, 其病因复杂繁多, 发病机制多与胃肠运动障碍、内脏敏感性增高、黏膜免疫和炎症反应、脑肠轴异常及精神-心理社会因素等有关, 而精神心理因素参与被认为在此类疾病发生和发展中起重要作用[4]. 研究发现, 心理精神因素与FGIDs胃肠动力障碍相关, 许多FGIDs胃肠动力障碍患者伴有焦虑、抑郁等心理变异表现[5]. FGIDs是针灸临床的优势病种. 针灸疗法以其适应症广、早期起效迅速、远期疗效稳定、多途径调节、双向平衡调节、心身共治、总有效率高的优势广泛而有效地运用于功能性胃肠疾病的防治[6,7]. 本课题采用隔药饼灸, 以FGIDs肝郁脾虚证大鼠为受试对象, 以多潘立酮及逍遥散为对照, 观察隔药饼灸对胃肠激素和胃肠动力的影响, 从而探讨隔药饼灸治疗FGIDs肝郁脾虚证可能的作用机制.

1 材料和方法

1.1 材料 健康SD大鼠60只, 雌雄各半, 体质量200-250 g, 湖南中医药大学动物实验中心提供(动物合格证号: SCXK<湘>2009-0004). 饲养温度20 ℃-25 ℃, 相对湿度50%-70%. 多潘立酮(片剂, 10 mg/片)(西安杨森制药有限公司, 国药准字号: H10910003, 批号: 120117119); 胃动素(motilin, MTL)、胃泌素(gastrin, Gas)、血管活性相关肠肽(vasoactive intestinal peptide, VIP)酶联免疫分析试剂盒(南京建成科技有限公司提供); PW-960多功能全自动酶标洗板机(深圳汇松科技有限公司); MB酶标仪(深圳汇松科技有限公司); AUE-210电子分析天平(长沙湘仪天平仪器厂); 中药饮片(购自湖南中医药大学第二附属医院中药房); 神灸300灸艾炷(型号: 东方一型, 批号20100812).

1.2 方法

1.2.1 逍遥散水煎剂制备: 按柴胡∶当归∶白芍∶白术∶茯苓∶甘草∶薄荷∶姜以2∶2∶2∶2∶2∶1∶1∶1比例配方. 药材购自湖南中医药大学第二附属医院中药房. 先将饮片(薄荷除外)以蒸馏水浸泡1 h, 后以武火急煎至沸腾, 再以文火煎煮2 h, 于起锅前10 min放入薄荷, 取汁后以4层纱布过滤; 药渣再加蒸馏水文火煎煮1 h, 过滤取汁. 两次药汁合并, 将药物浓缩至含生药2 g/mL(相当于人的等效剂量的4倍), 置4 ℃冰箱保存备用[8].

1.2.2 多潘立酮溶液的制备: 根据成人30 mg/d的用量换算成大鼠等效剂量, 动物药量 = 成人剂量×0.018(200 g大鼠与70 kg成人体表面积比), 将多潘立酮片研成细粉末, 溶于蒸馏水中, 溶液浓度为0.27 mg/mL, 大鼠按2.7 mg/kg剂量给予灌胃, 灌胃容积为1 mL/100 g体质量, 用时充分摇匀.

1.2.3 营养性半固体糊的制备[9]: 取10 g羧甲基纤维素钠, 溶于250 mL蒸馏水中, 分别加入16 g奶粉, 8 g糖, 8 g淀粉和2 g活性炭末, 搅拌均匀, 配制成300 mL约300 g的黑色半固体糊状物. 冰箱冷藏, 用时恢复至室温.

1.2.4 造模方法: 参照岳利峰方法造模[10], 采用慢性束缚应激+过度疲劳+饮食失节的方法, 在此基础上加夹尾30 min、摇晃5 min, 实验前全部动物进行预游泳, 剔除游泳时间<10 min、>20 min的大鼠. 造模: 造模大鼠于每天上午8:00置于束缚盒中限制3 h, 同时夹尾30 min、摇晃5 min,下午2:00置于盛有温水22 ℃±1 ℃的大塑料桶中游泳10 min. 隔日喂食(隔日禁食, 隔日足量给食), 连续3 wk.

1.2.5 动物分组及处理: 将60只SD大鼠按随机数字表法随机分为空白组、模型组、隔药饼灸组、逍遥散组和多潘立酮组5组, 每组12只. 除空白组正常饲养外, 其余4组均采用复合病因造模法(慢性束缚应激+过度疲劳+饮食失节+夹尾+摇晃)造模, 连续21 d, 后再按被试因素施加方法分组处理: 空白组正常饲养, 不做任何处理; 模型组行捆绑束缚30 min, 并灌服生理盐水, 灌胃容积均为1 mL/100 g体质量(下同); 隔药饼灸组行隔药饼灸30 min, 并灌服生理盐水; 逍遥散组行捆绑束缚30 min, 灌服逍遥散; 多潘立酮组行捆绑束缚30 min, 灌服多潘立酮, 共14 d.

1.2.6 施灸方法: 选穴: Ⅰ组: 肝俞、脾俞、足三里; Ⅱ组: 章门、期门、中脘. 取穴定位: 参照新世纪全国高等中医院校规划教材《实验针灸学》[11]及华兴邦的大鼠穴位图谱[12]. 艾炷: 选用苏州东方艾绒厂生产的“神灸300灸”艾炷. 隔药饼的药物组成及药饼制作: 将柴胡、茯苓, 白术、白芍、陈皮、防风各等份碎成粉末, 加促透剂后用醋调匀成糊状, 通过自制的艾灸底座模具捏压成厚约2 mm, 直径为1.0 cm±0.2 cm的药饼. 隔药饼灸法: 将大鼠捆绑束缚于鼠板上, 取穴定位剪毛后, 用细绳将已经做好药饼的底座固定在穴位上, 然后将直径为0.5 cm±0.2 cm的艾炷放在药饼上, 点燃施灸, 待艾炷燃完且余热散尽后, 再换另一壮, 每穴连续灸4-5壮(约

30 min), 1次/d, Ⅰ组、Ⅱ组穴位隔日交替施灸, 连续治疗2 wk.

1.2.7 标本的采集与处理: 实验结束后, 禁食24 h, 以20%乌拉坦4 mL/kg腹腔内注射麻醉, 予腹主动脉采血, 常温放置2-3 h, 4 ℃ 3 000 r/min, 离心15 min, 取上清液, -20 ℃保存待测.

1.2.8 观察指标及方法: (1)一般状态观察: 每日仔细观察大鼠的精神状态、姿势、皮毛色泽、活动度、对束缚的反应性、眼裂黏膜色泽、耳郭色泽以及粪便等全身情况; (2)胃肠激素测定: 参照试剂盒步骤用ELISA法检测血清中MTL、GAS、VIP的浓度; (3)胃排空率, 小肠推进率的测定[9]: 实验结束后, 各组大鼠禁食24 h, 每只大鼠按1 mL/100 g灌胃容积灌服营养性半固体糊, 30 min后麻醉取血, 处死动物, 打开腹腔, 分离肠胃. 结扎胃贲门和幽门, 取胃, 用滤纸吸干后称全质量(M1), 然后沿胃大弯剪开胃体, 用生理盐水洗去胃内容物后, 拭干, 称净质量(M2). 以胃全重和胃净重之差为胃内残留物质量, 计算胃内残留物占所灌半固体米糊的重量百分比为胃内残留率. 胃残留率(%) = 100(M1-M2)/营养性半固体糊的质量; 同时迅速取出小肠, 轻轻剥离后直铺于试验台白纸上, 不牵扯, 用直尺测量幽门至回盲肠部全长(L1)及幽门至黑色半固体糊前沿的距离(L2). 以幽门至黑色半固体糊前沿的距离占幽门至回盲部全长的百分率为小肠推进率. 小肠推进率(%) = 100L2/L1.

统计学处理 用SPSS16.0软件进行处理. 全部计量资料用样本含量(n)、mean±SD表示, 所有数据都进行正态性和方差齐性检验. 满足正态性者, 多组计量资料采用单因素方差分析(One-Way ANOVA), 方差齐时选择LSD法, 方差不齐时选择Dunnett T3法; 不满足正态性时选择秩和检验. 以P<0.05为有显著性差异.

2 结果

2.1 各组大鼠一般状态观察情况比较 实验前, 各组大鼠精神状态良好、活泼好动、皮毛光泽、耳郭呈淡粉色、球形粪便且干稀适中. 造模后各组大鼠神态倦怠、烦躁、毛发枯黄散乱无光泽、胡须下垂、耳郭色淡、吱吱细叫, 扎堆或蛰伏在角落、多数弓背静卧少动、大便多稀溏. 经治疗两周后隔药饼灸组、逍遥散组和多潘立酮组大鼠精神状态均较前好转, 大鼠活动较前增多、毛发整洁、粪便转干.

2.2 各组大鼠血清中MTL、GAS、VIP水平比较 与空白组相比, 模型组大鼠的血清MTL和GAS含量明显降低, VIP含量明显升高, 差异有高度统计学意义(P<0.05或P<0.01)(表1), 说明造模后各组大鼠MTL、GAS含量降低, VIP含量升高; 与模型组相比, 隔药饼灸组、逍遥散组与多潘立酮组大鼠MTL、GAS明显升高, VIP含量明显降低, 差异均有高度统计学意义(P<0.05或P<0.01), 3组间比较差异无统计学意义. 说明经2 wk治疗后, 隔药饼灸组能和逍遥散组、多潘立酮组一样升高血清中MTL和GAS的含量, 降低了VIP含量.

2.3 各组大鼠胃内残留率和小肠推进率比较 与空白组相比, 模型组大鼠的胃内残留率明显升高, 小肠推进率明显下降, 差异有统计学意义(P<0.05或P<0.01)(表2), 说明造模后各组大鼠胃排空时间延长,小肠推进功能缓慢; 与模型组相比, 隔药饼灸组、逍遥散组和多潘立酮组大鼠胃内残留率明显下降, 小肠推进率明显升高, 差异均有统计学意义(P<0.01). 但3组间比较差异无统计学意义. 说明经2 wk治疗后隔药饼灸能和逍遥散、多潘立酮一样促进胃的排空和小肠的推进功能.

3 讨论

FGIDs是以消化系动力与内脏感觉异常为主要病理生理特征, 并有多种症状重叠、多变或相互转换以及反复发作、较难治愈等特点. FGIDs的发病机制复杂, 与多种致病因素相关, 胃肠动力学障碍为其主要病理生理基础[13], 2002年, 世界胃肠病学大会提出了心因性动力病这一全新概念, 从神经胃肠病学角度将与身心疾病相关的情感综合征归入此范畴, 如抑郁、焦虑、疑心病和应激诱发疾病, 再次强调了心理因素在胃肠疾病发病机制中的重要作用. 例如, 当人们出现情绪异常或心理障碍时, 消化系可出现对各种生理性或非生理性刺激高度敏感, 疼痛阈值下降, 消化系神经-内分泌功能失调, 胃肠道功能紊乱, 从而产生功能性胃肠疾病, 而功能性胃肠病的症状又可影响人们的情绪异常或心理障碍, 从而加重胃肠道疾患.

祖国医学中没有功能性胃肠病的病名, 而将其归属于“胃脘痛”、“嘈杂”、“痞满”、“反酸”、“呕吐”、“泄泻”、“便秘”、“梅核气”等范畴, 认为肝郁脾虚, 肝旺乘脾, 升降失常, 乃病机之关键. 通过借鉴《实验动物学》对动物采取妨碍其自由活动的措施, 使其

■创新盘点
本实验从FGIDs与精神心理因素的关系出发, 以FGIDs肝郁脾虚模型大鼠为受试对象, 探讨隔药饼灸治疗FGIDs肝郁脾虚证可能的作用机制.

■同行评价
本文设计合理, 方法详细, 结果可信, 语言流畅, 具有一定指导意义.

表 1 各组大鼠血清中胃动素、胃泌素、血管活性相关肠肽水平比较 (n = 12, mean ± SD, pg/mL)

分组	胃动素	胃泌素	血管活性相关肠肽
空白组	454.69 ± 71.58	64.61 ± 9.57	142.53 ± 16.83
模型组	397.93 ± 48.77[a]	57.34 ± 3.39[a]	170.55 ± 16.83[b]
隔药饼灸组	475.78 ± 77.27[d]	67.12 ± 9.08[d]	155.71 ± 14.66[c]
逍遥散组	458.24 ± 63.02[c]	67.15 ± 8.75[d]	151.79 ± 11.46[d]
多潘立酮组	453.95 ± 54.04[c]	64.57 ± 8.68[d]	147.03 ± 22.16[d]

[a]P<0.05, [b]P<0.01 *vs* 空白组; [c]P<0.05, [d]P<0.01 *vs* 模型组.

表 2 各组大鼠胃内残留率和小肠推进率比较 (n = 12, mean ± SD, %)

分组	胃内残留率	小肠推进率
空白组	37.16 ± 11.72	63.10 ± 9.44
模型组	49.83 ± 11.25[a]	51.78 ± 5.57[b]
隔药饼灸组	31.13 ± 16.62[d]	60.19 ± 6.99[d]
逍遥散组	35.55 ± 15.54[d]	60.55 ± 7.92[d]
多潘立酮组	30.79 ± 12.03[d]	62.04 ± 6.50[d]

[a]P<0.05, [b]P<0.01 *vs* 空白组; [d]P<0.01 *vs* 模型组.

正常生存本能受阻且不能表达, 有可能形成“郁怒”[14]. 我们参照岳利峰方法利用慢性束缚应激+过度疲劳+饮食失节+夹尾+摇晃方法成功复制了大鼠肝郁脾虚证模型, 模拟肝郁日久, 木郁乘土, 肝郁脾虚的病理演变过程. 在选方方面, 从疏肝健脾入手, 通过柴胡疏肝理气, 茯苓健脾止泻, 白术燥湿健脾, 白芍养血泻肝, 陈皮理气醒脾, 防风散肝舒脾, 六药相配, 共达补脾土而泻肝木, 调气机以止痛泻之功. 在选穴方面, 取肝之背俞穴肝俞和募穴期门以疏肝理气解郁; 脾之背俞穴脾俞和募穴章门以健脾益气和胃, 升清降浊; 足阳明胃经下合穴、合穴足三里及腑会中脘调理脾胃; 诸穴合用共奏疏肝解郁、健脾和胃、调理气机、祛湿止泻之功, 从而使痛消泻止.

MTL其生理功能是促进消化系运动, 加速胃排空, 对胃肠运动尤其对消化间期移行复合运动有重要调节作用. 胡淑娟等[15]证实了FD胃排空延长与MTL分泌下降有关, 其促进胃肠动力的作用机制可能是通过刺激胃窦部及十二指肠胃动素分泌细胞, 促进MTL的分泌, 提高大鼠血浆中MTL含量实现的[16]. GAS主要生物学活性是促进胃酸、胃蛋白酶分泌, 促进胃肠道黏膜生长, 使胃窦和幽门括约肌收缩, 延缓胃排空. 凌江红等[17]研究提示脑肠神经内分泌网络中外周胃泌素水平减低可能是实验性FD的主要病理学特征之一, 通过提高FD患者血清中GAS可改善胃肠动力[18], 实验研究发现促胃动力作用机制与GAS分泌增加, 增强迷走神经对胃肠平滑肌的兴奋作用有关[19]. VIP具有强大的抑制胃肠道平滑肌和括约肌的作用, 可抑制胃蠕动和胆囊收缩, 但可促进肠蠕动和肠分泌, 抑制肠液的吸收. 有学者[20,21]证实IBS模型大鼠体内存在VIP水平升高的病理状态, VIP分泌异常可能致使胃肠道动力和分泌功能紊乱, 从而使分泌物过多, 运动规律性改变, 肠道对外来刺激敏感性增强, 因而导致了腹痛腹泻等临床症状.

本实验结果显示, 模型大鼠MTL和GAS含量下降, VIP含量升高[22,23], 胃排空及小肠推进明显减慢[24], 与正常组比较P<0.05, 与文献报道一致. 说明FGIDs发病与胃肠激素分泌失调和胃肠动力障碍有一定的关系, 经过2 wk治疗后, 隔药饼灸组能和逍遥散组、多潘立酮组一样使血清中MTL、GAS含量和小肠推进率明显升高, VIP含量和胃内残留率明显下降,差异无明显统计学意义. 这为临床上应用隔药饼灸治疗功能性胃肠病提供了一定的理论和实验依据. 隔药饼灸可能是通过艾灸的温热效应、影响经络穴位的低电阻特性, 增加穴位的生物电流, 放大和发挥穴位的特殊功能, 再结合药物的渗透和透皮吸收等综合协调作用来通其经脉、调整气血, 使阴阳归于相对平衡, 脏腑功能趋于调和, 从而达到疏肝理气, 健脾和胃之功, 其通过调节神经内分泌系统, 以纠正异常的胃肠道相关脑肠肽表达, 通过增加血清中 MTL、GAS和降低VIP的含量, 以促进胃的排空和小肠的推进,使消化系运动恢复正常, 这可能是隔药饼灸治疗FGIDs的作用机制之一. 但其具体是通过哪条调节通路而实现的有待于进一步实验探讨.

4 参考文献

1 Koloski NA, Talley NJ, Boyce PM. Epidemiology

and health care seeking in the functional GI disorders: a population-based study. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2290-2299 [PMID: 12358247]
2 柯美云, 张艳丽. 重视心理因素与功能性胃肠疾病关系的研究. 诊断学理论与实践 2006; 5: 1-2
3 Corazziari E. Definition and epidemiology of functional gastrointestinal disorders. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2004; 18: 613-631 [PMID: 15324703 DOI: 10.1016/j.bpg.2004.04.012]
4 旺建伟, 金颖慧, 齐德英, 胥风华, 赵文静. 痛泻要方对脑肠肽含量的作用与脑–肠轴调控相关性的实验研究. 中医药信息 2011; 28: 15-17
5 汤凯捷, 张江春, 时昭红, 石拓, 姚小珠, 刘怡. 心理护理对功能性消化不良患者胃肠动力的影响. 中华现代护理杂志 2008; 14: 3441-3443
6 李文波, 刘诗. 针刺疗法治疗功能性肠疾病的研究进展. 世界华人消化杂志 2006; 14: 197-200
7 许冠荪, 申国明, 方正清, 刘自兵, 徐颖, 张荣军. 针灸防治功能性胃肠病进展. 基础医学与临床 2003; 23(增刊): 36-37
8 敖海清, 孙琪, 富文俊, 王文竹, 徐志伟. 逍遥散对慢性应激状态下大鼠海马神经细胞内糖皮质激素受体表达的影响. 中医药学报 2010; 38: 58-62
9 邢建峰, 封卫毅, 侯家玉. 小鼠胃排空及小肠推进实验方法的探讨. 北京中医药大学学报 2003; 26: 50-52
10 岳利峰, 丁杰, 陈家旭, 岳广欣, 梁媛, 霍素坤, 李晶晶. 肝郁脾虚证大鼠模型的建立与评价. 北京中医药大学学报 2008; 31: 394-399
11 李忠仁. 实验针灸学. 北京: 中国中医药出版社, 2003: 314-319
12 华兴邦, 李辞蓉, 周浩良, 宋大鲁, 胡元亮. 大鼠穴位图谱的研制. 实验动物与动物实验 1991; 31: 1-3
13 刘新光. 功能性消化不良与胃肠动力异常. 中华消化杂志 2002; 22: 44
14 乔明琦, 张惠云, 陈雨振, 韩秀珍, 姚泽贤, 刘长华, 宋承木. 肝郁证动物模型研究的理论思考. 中国医药学报 1997; 32: 43
15 胡淑娟, 王小娟, 郭璇, 肖麟, 谭华梁. 舒胃汤对功能性消化不良大鼠Cajal间质细胞、胃动素表达的影响. 中国实验方剂学杂志 2011; 17: 170-173
16 陈苏宁, 梁靓靓, 史业东. 胃痛消痞方对脾胃虚寒型功能性消化不良大鼠胃肠动力和胃动素的影响. 世界华人消化杂志 2010; 18: 699-702
17 凌江红, 韦连明, 张钰琴, 王道刚, 梁纲, 陈业强, 刘耀利, 李勇杰. 疏肝理气法对功能性消化不良大鼠下丘脑胃血浆胃泌素的影响. 辽宁中医杂志 2009; 36: 1812-1813
18 史业东, 梁靓靓, 陈苏宁. 胃痛消痞方加减对功能性消化不良大鼠一氧化氮和胃泌素影响的实验研究. 实用药物与临床 2010; 13: 86-88
19 孙旭娟, 李卫平, 战丽彬, 白长川, 周琴, 李楠. “和胃饮”合剂对功能性消化不良大鼠胃肠激素的影响. 大连医科大学学报 2009; 31: 287-290
20 李冬华, 李春森, 李伍善, 邹志东, 张炎. 痛泻要方对肠易激综合征模型大鼠血管活性肠肽的影响. 时珍国医国药 2007; 18: 2098-2097
21 杨淑萍, 胡运莲, 刘俊琼. 易激胶囊对腹泻型肠易激综合征模型大鼠血管活性肠肽和肥大细胞表达的影响. 湖北中医药大学学报 2011; 13: 14-16
22 胡学军, 黄穗平, 邓时贵. 健脾理气方对功能性消化不良大鼠胃肠运动功能及胃动素、胃泌素的影响. 中国实验方剂学杂志 2011; 17: 214-217
23 王德山, 王艳杰, 李任锋, 刘旭东, 刘慧慧, 柴继严. 眼针对肠易激综合征模型大鼠结肠组织血管活性肠肽表达的影响. 时珍国医国药 2011; 22: 2794-2796
24 祝捷. 半夏泻心汤对功能性消化不良大鼠胃排空及血浆胃动素的影响. 中华中医药杂志 2005; 25: 335-337

编辑 田滢 电编 鲁亚静

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

• 消息 •

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

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2013年4月18日; 21(11): 1008-1013
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

DHA联合去甲斑蝥素对人胃癌细胞BGC-823增殖及凋亡的影响

王晨宇, 李 猛, 王天阳, 闫启超, 康建省

■背景资料
ω-3系多不饱和脂肪酸, 可预防和治疗不同种类的癌症, 并呈现相同或不同的作用机制. 然而二十二碳六烯酸(DHA)抗癌机制可能与肿瘤细胞膜脂质化、阻断肿瘤血管形成有关, 但大多数结果表明DHA具有较强的抗肿瘤作用.

王晨宇, 康建省, 河北医科大学第二医院微创外科 河北省石家庄市 050000
李猛, 河北医科大学第二医院肛肠外科 河北省石家庄市 050000
王天阳, 河北医科大学第二医院肝胆外科 河北省石家庄市 050000
闫启超, 河北医科大学第二医院神经外科 河北省石家庄市 050000
王晨宇, 在读硕士, 主要从事普通外科及腹腔镜的研究.
作者贡献分布: 此课题由王晨宇与李猛设计; 研究过程由王晨宇操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由王天阳提供; 数据分析由闫启超完成; 本论文写作由王晨宇与康建省完成.
通讯作者: 康建省, 教授, 主任医师, 050000, 河北省石家庄市和平东路215号, 河北医科大学第二医院微创外科.
kangjiansheng86@yahoo.com.cn
电话: 0311-66003995
收稿日期: 2013-02-25 修回日期: 2013-03-20
接受日期: 2013-03-29 在线出版日期: 2013-04-18

DHA combined with norcantharidin inhibits cell growth and promotes apoptosis in human gastric cancer cell line BGC-823

Chen-Yu Wang, Meng Li, Tian-Yang Wang, Qi-Chao Yan, Jian-Sheng Kang

Chen-Yu Wang, Jian-Sheng Kang, Department of Minimally Invasive Surgery, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China
Meng Li, Department of Intestinal Surgery, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China
Tian-Yang Wang, Department of Hepatobiliary Surgery, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China
Qi-Chao Yan, Department of Neurosurgery, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China
Correspondence to: Jian-Sheng Kang, Professor, Chief Physician, Department of Minimally Invasive Surgery, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China. kangjiansheng86@yahoo.com.cn
Received: 2013-02-25 Revised: 2013-03-20
Accepted: 2013-03-29 Published online: 2013-04-18

■同行评议者
唐世刚, 教授, 湖南省人民医院; 张志坚, 教授, 福州总医院消化内科

Abstract

AIM: To investigate the synergistic effect of docosahexaenoic acid (DHA) and norcantharidin on cell growth and apoptosis in human gastric cancer cell line BGC-823 *in vitro*.

METHODS: BGC-823 cells were stained with NADH enzyme and acridine orange to observe their morphology under a microscope before and after treatment with DHA and norcantharidin. MTT assay and flow cytometry were used to measure cell proliferation and apoptosis, respectively.

RESULTS: Treatment with DHA and norcantharidin significantly reduced BGC-823 cell survival. After NADH enzyme and acridine orange staining, apoptotic cells were visible. Bcl-2 protein expression was significantly decreased. The percentage of cells at G_2/M phase and S phase was significantly decreased, whereas that of cells at G_0/G_1 phase was increased.

CONCLUSION: Treatment with DHA and norcantharidin synergistically inhibits cell proliferation and promotes apoptosis in human gastric cancer cell line BGC-823.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Docosahexaenoic acid; Norcantharidin; BGC-823; Bcl-2

Wang CY, Li M, Wang TY, Yan QC, Kang JS. DHA combined with norcantharidin inhibits cell growth and promotes apoptosis in human gastric cancer cell line BGC-823. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(11): 1008-1013 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1008.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i11.1008

摘要

目的: 研究二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)联合去甲斑蝥素体外抗胃癌细胞的作用.

方法: 以人胃癌细胞BGC-823为模型, 利用NADH酶染色、吖啶橙染色显微镜观察人胃

癌细胞BGC-823经DHA联合去甲斑蝥素治疗前后的形态, 采用MTT法和流式细胞检测肿瘤细胞周期及凋亡情况.

结果: DHA联合去甲斑蝥素可显著降低肿瘤细胞存活率, NADH酶染色、吖啶橙染色可见细胞凋亡现象, 流式细胞检测Bcl-2基因蛋白表达明显下降, G_0/G_1细胞明显增加, G_2/M和S期细胞明显减少.

结论: DHA联合去甲斑蝥素诱导人胃癌BGC-823细胞凋亡及抑制其增殖具有协同作用.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 二十二碳六烯酸; 去甲斑蝥素; 人胃癌BGC-823细胞; Bcl-2

核心提示: DHA联合去甲斑蝥素(norcantharidin)诱导人胃癌BGC-823细胞凋亡及抑制其增殖具有协同作用.

王晨宇, 李猛, 王天阳, 闫启超, 康建省. DHA联合去甲斑蝥素对人胃癌细胞BGC-823增殖及凋亡的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(11): 1008-1013 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1008.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i11.1008

0 引言

二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)是ω-3系多不饱和脂肪酸, 由于含有6个不饱和键的特有结构, 他对人类健康有特殊的作用和影响[1]. 去甲斑蝥素(norcantharidin, NCTD)是从斑蝥中提取后经人工合成的一种新型低毒抗肿瘤药物[2]. 本文研究联合应用DHA和去甲斑蝥素对肿瘤细胞的影响.

1 材料和方法

1.1 材料 人胃癌BGC-823细胞株购自中国科学院上海生命科学研究所; DHA和去甲斑蝥素均购自SIGMA公司; DHA用无水乙醇溶解充氮气后-20 ℃避光保存; 去甲斑蝥素溶于二甲基亚砜(DMSO)-20 ℃保存; 四甲基偶氮唑蓝(MTT)购自BIOSHARP公司; 吖啶荧光染料购自罗莱宝科技有限公司; NADH酶染料据《临床肌肉病理学》配制; 小鼠抗人Bcl-2单克隆抗体为Santa Cruz公司产品; RPMI 1640培养基购自GIBCO公司, 用时加入10%小牛血清.

1.2 方法

1.2.1 实验分组: 根据预实验和文献报道[3]用RPMI 1640培养基配置4组DHA, 终浓度分别为10、20、30、50 μg/mL, 空白组为等体积培养基, 对照组为不加处理的细胞, 用RPMI 1640培养基配置4组用DMSO溶解后的去甲斑蝥素, 终浓度为5、10、20、40 μg/mL得出各药的半对数抑制浓度(IC_{50})值, 选用均低于单药IC_{50}值的DHA(30 μg/mL)联合去甲斑蝥素(5 μg/mL), 对照组加入含无水乙醇(<0.5%, V/V)和DMSO(<1%, V/V).

1.2.2 NADH酶染色: 将1×10^{5}个BGC-823细胞接种于含盖玻片的6孔板中, 使其爬行呈单层贴壁且处于对数生长期, 加药继续培养24 h, 取出盖玻片, 冰0.1 mol/L PBS溶液冲洗2遍, NADH酶孵育液置37 ℃水浴箱45 min, 树胶封片显微镜观察.

1.2.3 吖啶橙染色: 将1×10^{5}个BGC-823细胞接种于含盖玻片的6孔板中, 使其爬行呈单层贴壁且处于对数生长期, 加药24 h后取出盖玻片, 冰0.1 mol/L PBS溶液冲洗2遍, 95%乙醇溶液固定5 min, 滴加0.01%吖啶橙染液染色1 min, 荧光显微镜观察并拍照保存.

1.2.4 MTT实验: 将培养瓶中贴壁细胞用0.25%胰蛋白酶和0.02%EDTA混合液消化, 收集后用细胞计数板计数, 用1640培养液调整细胞浓度为1×10^{5}个/mL, 分装到96孔平底型培养板, 每孔加液量100 μL, 继续培养24 h, 使细胞呈单层贴壁且处于对数生长期. 根据实验分组设计加药, 继续培养24 h, 终止反应时每孔加浓度为2 mg/mL的MTT 10 μL, 继续培养4 h, 弃上清, 每孔加二甲基亚砜150 μL, 酶标仪振荡器摇振10 min以使甲瓒产物充分溶解. 波长490 nm条件下测定吸光度(A)值. 细胞抑制率 = (实验组A值/对照组A值)×100%.

1.2.5 流式细胞检测: 细胞样品制备: 收集24 h实验组细胞1×10^{5}个/mL, 以冰0.01%PBS洗涤细胞2次, 重悬于700 mL/L预冷乙醇固定[4], PI一步法染色, 流式细胞仪检测亚二倍体峰的比例并拟合细胞周期曲线. 蛋白含量以平均荧光强度表示, 平均荧光强度 = [lg(X-Mode)]×340.

统计学处理 所得数据用mean±SD表示, 采用SPSS16.0统计软件包行单因素方差分析. 在某些实验中采用双因素方差分析、Pearson相关分析, P<0.05表示有统计学意义.

2 结果

2.1 NADH酶染色 对照组细胞呈正常伸展状态(图1A), 染色颗粒均匀, 胞核规则圆形, 位于细胞

■研发前沿

自1978年Dyerberg发表有关爱斯基摩人的流行病学新调查以来, 对DHA的生理和药理作用的研究已取得显著成就, 研究范围从基础研究、药理和临床研究, 逐步扩大到作为医药品、高级营养品的应用研究.

■相关报道
ω-3系多不饱和脂肪酸对人胃癌BGC-823细胞周期及凋亡的作用机制可能是ω-3系多不饱和脂肪酸改变了肿瘤细胞Bcl-2基因蛋白的表达和细胞周期.

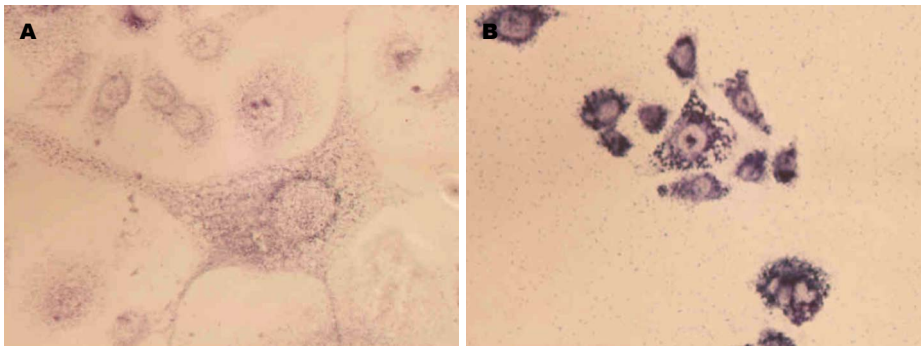


图 1 NADH酶染色(×400). A: 未处理细胞; B: 二十二碳六烯酸联合去甲斑蝥素作用.

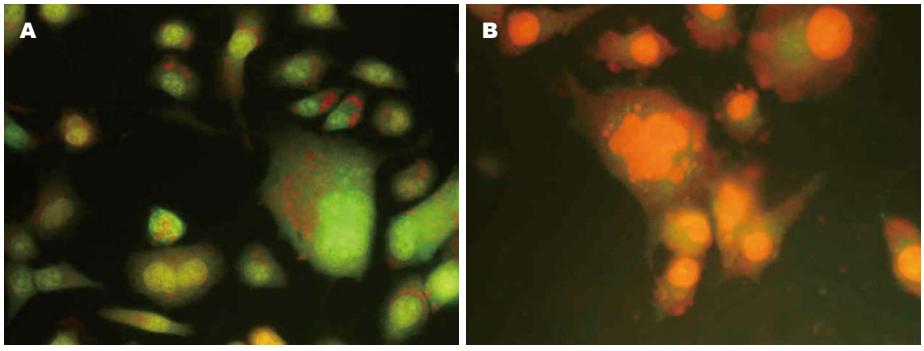


图 2 吖啶橙染色(×400). A: 未处理细胞; B: 二十二碳六烯酸联合去甲斑蝥素作用.

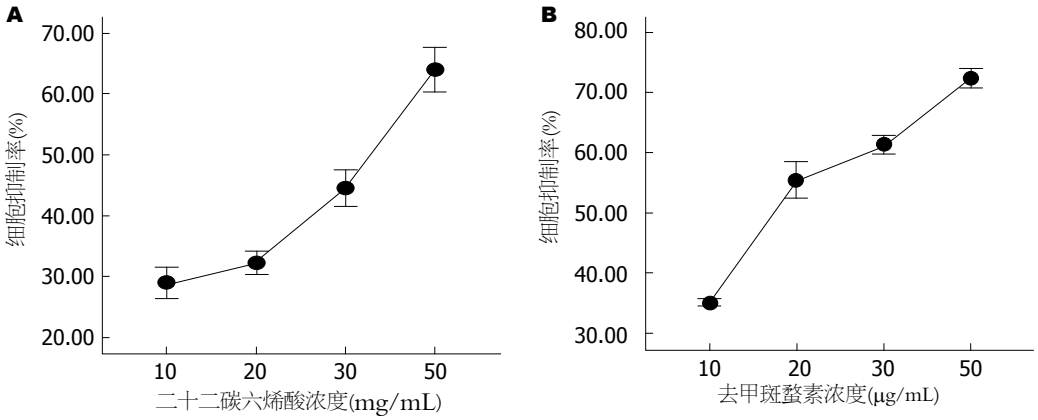


图 3 细胞生长的量效曲线. A: 二十二碳六烯酸对BGC-823细胞生长的抑制; B: 去甲斑蝥素对BGC-823细胞生长的抑制.

中央, 核膜清楚. 经DHA联合NCTD治疗后, 可见细胞裂解, 胞核分裂、胞膜边界清的凋亡小体, 细胞体积缩小, 形态不一, 胞质颗粒深染, 密度增加. 核膜核仁破碎, 结构更加紧密, 细胞核固缩呈均一的颗粒物(图1B).

2.2 吖啶橙染色 对照组细胞呈现典型的肿瘤细胞特征(图2A), 细胞大小不等, 细胞核呈规则的圆形, 位于细胞中央. 经DHA联合NCTD治疗后, 可见细胞胞体肿胀, 胞核变形, 呈肾形、马蹄形(凋亡小体形成和核破碎)(图2B).

2.3 DHA和NCTD对人胃癌BGC-823细胞抑制率的影响 用MTT法分别测定DHA 4个浓度(10、20、30、50 mg/mL)和NCTD 4个浓度(5、10、20、40 μg/mL)对BGC-823细胞作用24 h后的抑制率(图3), DHA和NCTD均抑制细胞生长, 得出DHA和NCTD的IC_{50}值分别为45.37 μg/mL和7.85 μg/mL, 联合用药组细胞生长抑制率较单药明显升高, 作用效果以公式联合指数(CI) = AB%/A%×B%计算, (CI = 1表示相加, <1表示协同, >1表示拮抗). 选用均低于单药IC_{50}值的DHA(30 μg/mL)联合NCTD(5 μg/mL)对细胞抑制率的CI为0.187±0.052(P<0.01), 说明联合用药的效果

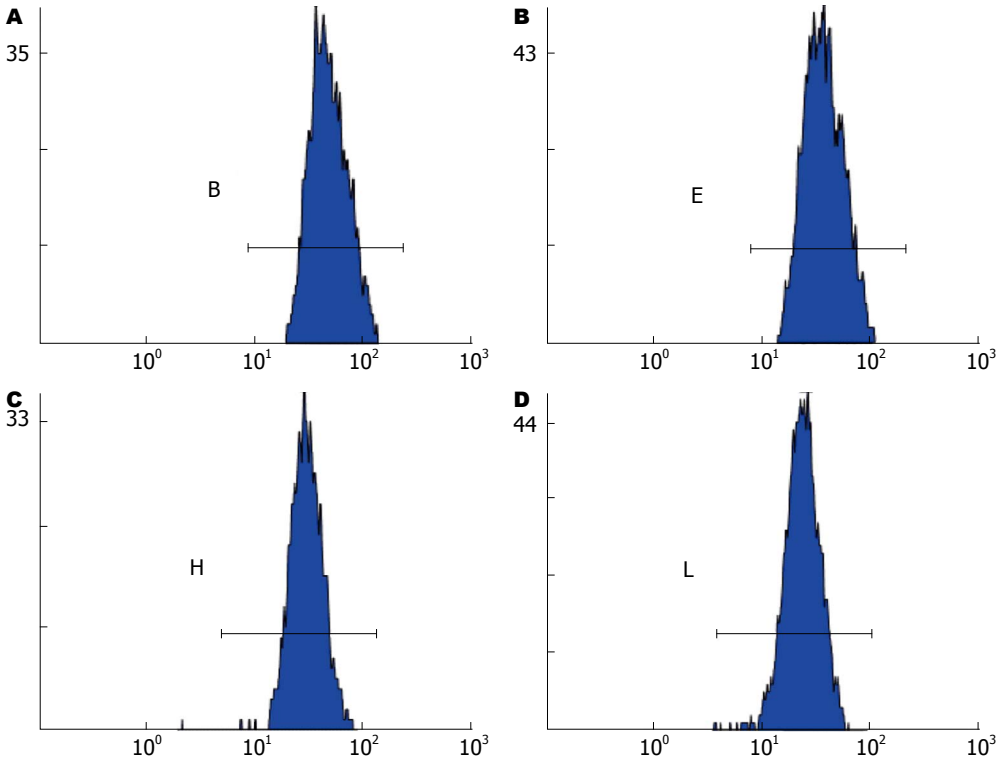


图 4 流式细胞术检测经药物处理BGC-823细胞24 h后蛋白含量. A: 未加药处理; B: 二十二碳六烯酸30 μg/mL; C: 去甲斑蝥素5 μg/mL; D: 二十二碳六烯酸联合去甲斑蝥素作用.

■创新盘点

本文利用NADH酶染色、吖啶橙染色显微镜观察人胃癌细胞BGC-823经DHA联合去甲斑蝥素治疗前后的形态, 采用MTT法和流式细胞检测肿瘤细胞周期及凋亡情况, 证明DHA联合去甲斑蝥素诱导人胃癌BGC-823细胞凋亡及抑制增殖具有协同作用.

是协同作用.

2.4 流式细胞检测 流式细胞检测Bcl-2基因蛋白表达明显下降(图4); DHA、NCTD以及DHA联合NCTD处理细胞后在G_0/G_1期出现明显的亚二倍体凋亡峰, 分别为5.3%、6.1%、14.1%, 同时3组的细胞凋亡率均高于对照组的细胞凋亡率(3.4%). 拟合细胞周期曲线, 对照组、DHA和NCTD的G_0/G_1期比例分别为42.3%、53.9%和66.2%, S期的比例分别为55.9%、36.7%和32.5%, 而联合组的G_0/G_1期上升至69.8%, S期则下降至27.8%(图5).

3 讨论

ω-3系多不饱和脂肪酸是人体必须从体外获得的脂肪酸, 包括3种: α-亚麻酸、DHA、二十碳五烯酸(EPA). 现研究表明他们可预防和治疗不同种类的癌症[5-7], 并显示出相同和不同的机制[8]. 然而DHA抗癌机制未完全阐明, 可能与肿瘤细胞膜脂质化、阻断肿瘤血管形成有关[9,10], 但大多数结果表明DHA具有最强抗肿瘤作用. DHA还在冠心病、动脉粥样硬化和2型糖尿病的发病机制中起重要作用. 肿瘤的发生、发展和形成, 取决于肿瘤细胞增殖与细胞凋亡的相互作用. 因此, 通过药物治疗选择性的诱导肿瘤细胞凋亡, 可以改善肿瘤患者的预后. 随着人们对细胞凋亡的不断深入研究, 发现促进肿瘤细胞发生凋亡, 也是治疗肿瘤的一个有效途径. 胃癌作为一种临床常见的恶性肿瘤, 对传统化疗药物耐受性高, 化疗效果不理想. 这与其逃避化疗药物诱发的凋亡有很大关系. 所以, 寻求高效的促细胞凋亡药物或者增强传统化疗药物诱导凋亡活性的新药, 对解决目前胃癌治疗窘境有重要的临床意义. NCTD具有显著的抗癌作用, 同时具有上调白细胞、保护肝细胞、调节免疫功能等作用. 临床上主要用于胃癌、肝癌及乳腺癌等的治疗. 通过本文研究, DHA有助于增强经典抗癌药物的作用, 他通过简单相加或者共价结合等不同形式与具有明确抗癌效果的药物联合, 达到增强抗癌作用、降低药物毒性、解决耐药性的目的. 并且, DHA可改善化疗患者营养状况、食欲、生活质量和预防术后并发症的发生, 对化疗引起的周围神经病变、肌痛、脱发等也有缓解[11-13]. 联合化疗的优势: 一方面, 多种药物从不同通路、机制抑制肿瘤生长, 可以优势互补, 而且降低了肿瘤耐药的发生; 另一方面, 联合方案中, 各化疗药物的用药剂量可以适当减少, 对机体的非特异性毒性也相对降低. 从化疗药物问世的近50年中, 联合化疗一直是肿

■应用要点
本文化疗患者结合DHA营养支持治疗, 不仅可提高患者的化疗效果, 还可提高患者耐受力, DHA可改善化疗患者营养状况、食欲、生活质量和预防术后并发症的发生, 对化疗引起的周围神经病变、肌痛、脱发等不良反应也有缓解. 作为一种新型治疗手段, 具有潜在应用前景.

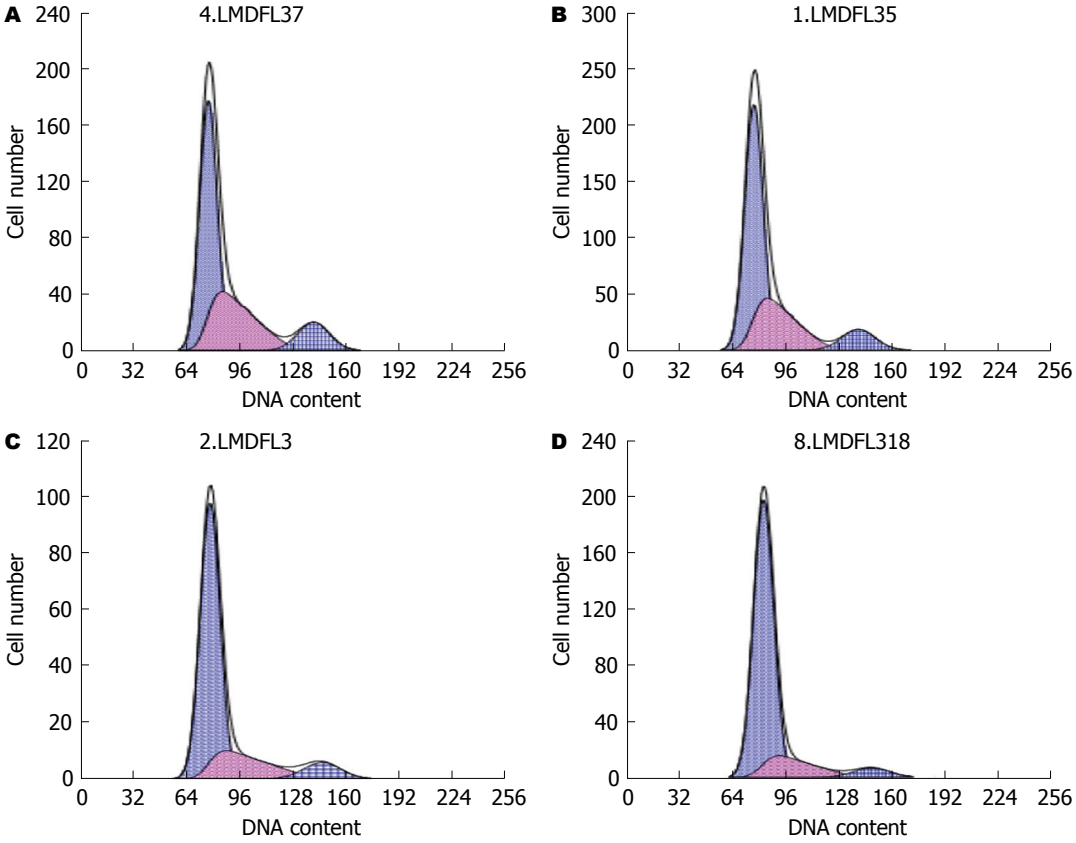


图 5 PI染色流式细胞术检测经药物处理BGC-823细胞24 h亚二倍体峰比例和拟合的细胞周期曲线. A: 未加药处理; B: 二十二碳六烯酸30 μg/mL; C: 去甲斑蝥素5 μg/mL; D: 二十二碳六烯酸联合去甲斑蝥素作用.

瘤化疗的主流. 已有临床研究显示: 在癌症患者中, 通过饮食或者药物的形式补充DHA可以改善生活质量、生化指标(血浆EPA、C-反应蛋白和胃蛋白酶原)及延长生存期[14,15]. 同时, DHA具有抗炎作用, 尤其是对幽门螺杆菌感染和炎症引起的胃炎效果较明显[16]. 因此, 化疗患者结合DHA营养支持治疗, 不仅可提高患者化疗效果, 还可提高患者耐受力, 作为一种新型治疗手段, 可能具有潜在的应用前景.

4 参考文献

1 Simopoulos AP. Genetic variants in the metabolism of omega-6 and omega-3 fatty acids: their role in the determination of nutritional requirements and chronic disease risk. *Exp Biol Med* (Maywood) 2010; 235: 785-795 [PMID: 20558833 DOI: 10.1258/ebm.2010.009298]
2 Li JL, Cai YC, Hu ZM, Gao JM. [Norcantharidin inhibits DNA replication initiation protein Cdc6 in cancer cells]. *Nanfang Yike Daxue Xuebao* 2010; 30: 1851-1853 [PMID: 20813683]
3 巩涛, 李勇, 郭建文, 范立桥, 赵群, 王力利, 宋振川, 焦志凯, 刘羽. ω-3多不饱和脂肪酸对人胃癌BGC-823细胞周期及凋亡的影响. 中国临床营养杂志 2006; 14: 77-81
4 吴丽娟, 主编. 临床流式细胞学检验技术. 第一版. 北京: 人民军医出版社, 2010: 6-8
5 Mu D, Chen W, Yu B, Zhang C, Zhang Y, Qi H. Calcium and survivin are involved in the induction of apoptosis by dihydroartemisinin in human lung cancer SPC-A-1 cells. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 2007; 29: 33-38 [PMID: 17344942 DOI: 10.1358/mf.2007.29.1.1063493]
6 Heinze VM, Actis AB. Dietary conjugated linoleic acid and long-chain n-3 fatty acids in mammary and prostate cancer protection: a review. *Int J Food Sci Nutr* 2012; 63: 66-78 [PMID: 21762028 DOI: 10.3109/09637486.2011.598849]
7 Jiao Y, Ge CM, Meng QH, Cao JP, Tong J, Fan SJ. Dihydroartemisinin is an inhibitor of ovarian cancer cell growth. *Acta Pharmacol Sin* 2007; 28: 1045-1056 [PMID: 17588342 DOI: 10.1111/j.1745-7254.2007.00612.x]
8 Serini S, Fasano E, Piccioni E, Cittadini AR, Calviello G. Differential anti-cancer effects of purified EPA and DHA and possible mechanisms involved. *Curr Med Chem* 2011; 18: 4065-4075 [PMID: 21824086 DOI: 10.2174/092986711796957310]
9 Chapkin RS, Seo J, McMurray DN, Lupton JR. Mechanisms by which docosahexaenoic acid and related fatty acids reduce colon cancer risk and inflammatory disorders of the intestine. *Chem Phys Lipids* 2008; 153: 14-23 [PMID: 18346463]
10 Spencer L, Mann C, Metcalfe M, Webb M, Pollard C, Spencer D, Berry D, Steward W, Dennison A. The effect of omega-3 FAs on tumour angiogenesis and their therapeutic potential. *Eur J Cancer* 2009; 45: 2077-2086 [PMID: 19493674 DOI: 10.1016/

j.ejca.2009.04.026]
11 Bradley MO, Swindell CS, Anthony FH, Witman PA, Devanesan P, Webb NL, Baker SD, Wolff AC, Donehower RC. Tumor targeting by conjugation of DHA to paclitaxel. *J Control Release* 2001; 74: 233-236 [PMID: 11489499 DOI: 10.1016/S0168-3659(01)00321-2]
12 Biondo PD, Brindley DN, Sawyer MB, Field CJ. The potential for treatment with dietary long-chain polyunsaturated n-3 fatty acids during chemotherapy. *J Nutr Biochem* 2008; 19: 787-796 [PMID: 18602809 DOI: 10.1016/j.jnutbio.2008.02.003]
13 Bougnoux P, Hajjaji N, Maheo K, Couet C, Chevalier S. Fatty acids and breast cancer: sensitization to treatments and prevention of metastatic re-growth. *Prog Lipid Res* 2010; 49: 76-86 [PMID: 19715726]
14 Colomer R, Moreno-Nogueira JM, García-Luna PP, García-Peris P, García-de-Lorenzo A, Zarazaga A, Quecedo L, del Llano J, Usán L, Casimiro C. N-3 fatty acids, cancer and cachexia: a systematic review of the literature. *Br J Nutr* 2007; 97: 823-831 [PMID: 17408522 DOI: 10.1017/S000711450765795X]
15 Jones RJ, Hawkins RE, Eatock MM, Ferry DR, Eskens FA, Wilke H, Evans TR. A phase II open-label study of DHA-paclitaxel (Taxoprexin) by 2-h intravenous infusion in previously untreated patients with locally advanced or metastatic gastric or oesophageal adenocarcinoma. *Cancer Chemother Pharmacol* 2008; 61: 435-441 [PMID: 17440725]
16 Kuriki K, Wakai K, Matsuo K, Hiraki A, Suzuki T, Yamamura Y, Yamao K, Nakamura T, Tatematsu M, Tajima K. Gastric cancer risk and erythrocyte composition of docosahexaenoic acid with anti-inflammatory effects. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007; 16: 2406-2415 [PMID: 18006930]

■同行评价
本文方法可靠、技术成熟，结果可信，为临床胃癌的化疗提供了比较实用客观的实验数据，有一定的实用价值.

编辑 田滢 电编 鲁亚静

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版)

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

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

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2013年4月18日; 21(11): 1014-1019
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

食管癌术后谵妄症的发病率及其原因

续国武, 郑 锴, 张 鹏

■背景资料
术后谵妄是食管切除术后的常见并发症, 严重影响食管癌患者的术后康复.

续国武, 郑锴, 张鹏, 天津医科大学总医院心胸外科 天津市 300052
作者贡献分布: 张鹏、郑锴及续国武对此文所作贡献均等; 此课题由张鹏、郑锴及续国武设计; 研究过程由张鹏、郑锴及续国武操作完成; 研究所用患者资料及分析工具由郑锴提供; 数据分析由续国武完成; 本论文写作由张鹏、郑锴及续国武完成.
通讯作者: 郑锴, 教授, 副主任医师, 300052, 天津市和平区鞍山道154号, 天津医科大学总医院心胸外科.
1743350387@qq.com
收稿日期: 2012-12-28 修回日期: 2013-03-20
接受日期: 2013-03-31 在线出版日期: 2013-04-18

Incidence and causes of postoperative delirium in patients with esophageal cancer

Guo-Wu Xu, Kai Zheng, Peng Zhang

Guo-Wu Xu, Kai Zheng, Peng Zhang, Department of Cardiothoracic Surgery, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China
Correspondence to: Kai Zheng, Professor, Associate Chief Physician, Department of Cardiothoracic Surgery, Tianjin Medical University General Hospital, 154 Anshan Road, Heping District, Tianjin 300052, China. 1743350387@qq.com
Received: 2012-12-28 Revised: 2013-03-20
Accepted: 2013-03-31 Published online: 2013-04-18

Abstract

AIM: To investigate the incidence and causes of postoperative delirium in patients with esophageal cancer.

METHODS: We conducted a retrospective cohort analysis of 124 patients who had undergone an esophagectomy at Tianjin Medical University General Hospital from January 2010 to December 2012. All quantitative data and all qualitative data were analyzed using Student's *t* test and Chi-square test, respectively.

RESULTS: Postoperative delirium developed in 60 (48.4%) of 124 patients. Elder age (P = 0.007), history of mental illness (P = 0.0001), longer period of time under mechanical ventilation after surgery (P = 0.0001), longer ICU stay after surgery (P = 0.0001), longer period of prohibiting drinking and eating from mouth after surgery (P = 0.0001), and occurrence of postoperative complications (P = 0.002) were significantly associated with the development of postoperative delirium.

CONCLUSION: The development of postoperative delirium in patients with esophageal cancer is a problem that should not be ignored. Causes of postoperative delirium include elder age, history of mental illness, longer periods of time under mechanical ventilation after surgery, longer postoperative ICU stays, longer periods of prohibiting drinking and eating from mouth after surgery, and occurrence of postoperative complications.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Esophageal cancer; Postoperative delirium; Incidence; Causes

Xu GW, Zheng K, Zhang P. Incidence and causes of postoperative delirium in patients with esophageal cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(11): 1014-1019 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1014.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i11.1014

摘要

目的: 调查食管癌术后谵妄的发病率并对其发病原因进行进一步探析.

方法: 回顾性地分析了2010-01/2012-12在天津医科大学总医院心胸外科行食管切除术的124例食管癌患者临床资料, 并采用SPSS17.0软件进行*t*检验、χ^2检验, 对结果进行统计学分析.

结果: 124例患者中有60例(48.4%)发生了术后谵妄. 结果表明高龄(P = 0.007)、既往相关精神疾病史(P = 0.0001)、术后长时间机械通气(P = 0.0001)、术后延长ICU住院时间(P = 0.0001)、术后延长经口禁食水时间(P = 0.0001)以及术后并发症的发生(P = 0.002)均与术后谵妄明显相关.

结论: 食管癌患者术后谵妄是一个不容忽视的问题. 术后谵妄的发生与高龄、既往相关精

■同行评议者
郑勇, 教授, 主任医师, 石河子大学医学院第一附属医院

神疾病史、术后长时间机械通气、术后延长ICU住院时间、术后延长禁食水时间以及术后并发症相关.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 食管癌; 术后谵妄; 发病率; 原因

核心提示: 术后谵妄是食管癌术后严重并发症, 本研究对其发病率进行统计且证实食管癌术后谵妄的发生与高龄、既往相关精神疾病史、术后长时间机械通气、术后延长重症监护病房住院时间、术后延长禁食水时间以及术后并发症密切相关.

续国武, 郑锴, 张鹏. 食管癌术后谵妄症的发病率及其原因. 世界华人消化杂志 2013; 21(11): 1014-1019 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1014.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i11.1014

0 引言

食管癌是胸外科疾病中最常见的恶性肿瘤之一, 位居肿瘤发病率的第8位以及死因的第6位[1]. 食管切除术是食管癌的最佳治疗方案. 据美国癌症联合会报道, 食管癌术后5年存活率大约为Ⅰ期90%, Ⅱ期45%, Ⅲ期20%, Ⅳ期10%[2]. 食管切除术作为一种大型手术, 术后与多种并发症相关, 如胃肠道瘘、肺感染、急性肺损伤、急性呼吸窘迫综合征、败血症以及术后谵妄等[3]. 术后谵妄(postoperative delirium), 亦被称为术后精神障碍(postoperative psychonosema, POP)或急性脑病综合征, 是一种重大手术术后常见而严重的并发症, 以意识紊乱、认知功能改变、知觉障碍、醒睡周期紊乱、发病急骤以及病情波动为特征[4]. 谵妄患者在意识清晰度降低的同时, 表现有定向力障碍, 包括时间、空间、人物定向力以及自身认识障碍, 并产生大量的错觉、幻觉. 根据临床特征, 谵妄被分成3种亚型: 兴奋型、抑制型和混合型[5]. 兴奋型表现为交感神经过度兴奋, 对刺激的警觉性增高以及精神运动极度增强, 如烦躁不安、胡言乱语、神志欠清, 能回答问题, 但有逻辑错误, 不配合治疗, 幻视、幻听等; 抑制型表现为对刺激的反应下降和退怯行为, 如情绪低落、情感淡漠、缄默少语、多眠或失眠及纳差等; 混合型表现为兴奋和抑制状态交替出现. 大多数谵妄患者病情恢复快, 但有时术后谵妄的发生与住院时间的延长、住院费用的增加以及死亡率的增高表现出相关性[6-9]. 据报道, 大型手术如心血管手术术后谵妄的发生率为30%-73%[10-13]. 曾有报道, 术后谵妄的危险因素为高龄、既往相关精神疾病史以及失血量的增加[9,11,12,14-16]. 近来几项研究表明食管切除术后的一部分患者会发生术后谵妄[17-19], 然其结果各异, 患者数量及诊断标准不一. 并且据我们所知, 我国作为食管癌高发地区, 食管癌术后谵妄的发病率以及发病原因目前尚不明确. 本研究的目的旨在调查食管癌术后谵妄的发病率并对其发病原因进行进一步探析.

■研发前沿
以研究食管癌患者术后谵妄的具体影响因素为热点、重点, 二者之间的具体关系及如何预防、治疗术后谵妄亟待解决.

1 材料和方法

1.1 材料 本研究中124例食管癌患者均于2010-01/2012-12在天津医科大学总医院心胸外科行全麻下食管切除术. 二期手术患者、统计资料不全的患者以及术后镇静时间超过10 d的患者均被排除于本研究之外.

1.2 方法

1.2.1 术后管理: 124例患者均于术中放置自控式镇痛泵作为术后镇痛的主要方法. 所有患者术后均于ICU内行机械通气治疗, 术后机械通气时间中位数为14.3 h. 机械通气过程中应用的主要镇静剂为吗啡、丙泊酚、咪达唑仑. 气管插管拔管指征: 患者完全清醒, 呼吸循环稳定, PaO_2/FiO_2>300, $PaCO_2$<50 mmHg. 患者ICU居住时间中位数为6.6 d. 转出ICU指征: 患者神智清楚, 呼吸循环稳定, 无肠内营养支持不良反应. 十二指肠置管术或空肠造瘘术营养支持开始时间为1-2 d. 口入饮食的开始时间中位数为8-10 d.

1.2.2 患者病历资料分析: 用回顾性图表总结收集数据, 采用已有报道的谵妄相关危险因素作为术前、术中、术后以及临床病理资料的统计表格基本要素[6,17,20-22]. 术前资料包括年龄、性别、身体质量指数(body mass index, BMI)、既往精神疾病史、术前血液学检查血红蛋白(hemoglobin, Hb)、白蛋白(albumin, Alb)、血钠(Na^+)、血钾(K^+)、血钙(Ca^{2+})、肌酐(creatinine, Cr)、尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、谷丙转氨酶(glutamic-pyruvic transaminase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)、美国麻醉医师协会ASA分级. 手术资料(或术中资料)包括肿瘤部位、临床分期、组织学分型、手术时间、麻醉时间、失血量. 术后资料包括术后机械通气时间、ICU住院时间、术后禁食水时间、术后并发症. 谵妄以中国精神障碍分类与诊断标准

■创新盘点
本文对食管癌术后谵妄的发病率进行了统计，并就术后谵妄的术前、术中、术后3方面相关因素分别进行了相关性研究.

表 1 谵妄患者与非谵妄患者术前资料统计表

变量	全部患者	谵妄患者	非谵妄患者	*P*值
n	124	60	64	
年龄(岁)	62.5 ± 13.3	65.2 ± 12.6	59.8 ± 14.0	0.007
性别(男/女)	96/28	49/11	42/17	0.273
BMI(kg/m^2)	21.8 ± 3.2	21.6 ± 3.1	22.0 ± 3.3	0.398
既往精神疾病史*n*(%)	14(11.3)	14(23.3)	0(0)	0.0001
术前血液学检查				
Hb(g/L)	130.5 ± 15.1	130.5 ± 14.7	130.5 ± 15.5	1.000
Alb(g/L)	41.2 ± 3.5	41.3 ± 3.4	41.1 ± 3.6	0.699
Na^+(mmol/L)	138.5 ± 2.0	138.6 ± 1.9	138.4 ± 2.1	0.500
K^+(mmol/L)	4.0 ± 0.3	4.0 ± 0.5	4.0 ± 0.1	1.000
Ca^{2+}(mmol/L)	1.2 ± 0.1	1.2 ± 0.1	1.2 ± 0.1	0.916
BUN(mmol/L)	5.9 ± 1.2	5.8 ± 1.1	6.0 ± 1.3	0.263
Cr(μmol/L)	64.2 ± 8.3	64.3 ± 8.7	64.1 ± 7.9	0.870
ALT(U/L)	18.2 ± 11.1	18.1 ± 11.3	18.3 ± 10.9	0.903
AST(U/L)	30.4 ± 12.5	30.3 ± 11.8	30.5 ± 13.2	0.914
TBIL(μmol/L)	10.5 ± 3.3	10.9 ± 2.7	10.1 ± 3.9	0.106
ASA分级*n*(%)				0.545
I级	41(33.1)	20(33.3)	21(32.8)	
II级	79(63.7)	37(61.7)	42(65.6)	
III级	4(3.2)	3(5.0)	1(1.6)	
IV级	0(0)	0(0)	0(0)	

Hb: 血红蛋白; Alb: 白蛋白; Na^+: 血钠; K^+: 血钾; Ca^{2+}: 血钙; Cr: 肌酐; BUN: 尿素氮; ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶; TBIL: 总胆红素; BMI: 身体质量指数.

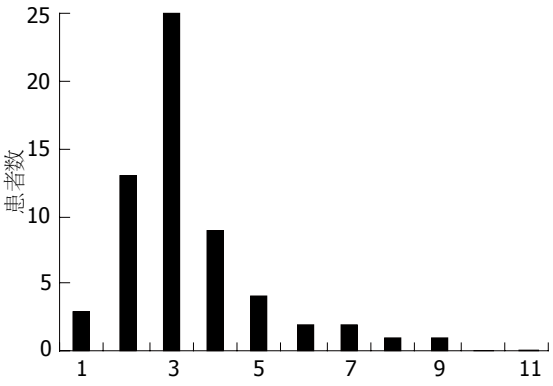


图 1 食管癌患者术后谵妄发作时间统计图.

(CCMD-3)[23]为根据确诊.

统计学处理 以SPSS17.0统计软件分析资料. 分别用*t*检验和χ^2检验对定量变量和定性变量加以比较. 设定$P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 患者资料统计 参与研究的124例患者中有男96例, 女28例, 平均年龄62.5岁±13.3岁(37-81岁). 男女平均年龄之间无明显差异. 这些患者的研究资料见表1-3. 所有患者均无谵妄病史. 最常见的手术方式为右侧开胸食管癌切除术(42例, 33.9%)和改良Evor Lewis手术(64例, 51.6%). 术后所有患者均入住ICU并行机械通气治疗.

2.2 术后谵妄资料统计 参与研究的124例患者中, 确诊术后谵妄60例(48.4%), 其中, 兴奋型29例(48.3%), 抑制型12例(20.0%), 混合型19例(31.7%). 大多数患者谵妄首次发作时间为术后第3天(25/60, 41.7%)和第2天(13/60, 21.7%)(图1). 60例谵妄患者中, 39例(65.0%)在3 d内恢复, 11例(18.3%)在4-6 d内恢复, 10例(16.7%)谵妄持续时间超过1 wk.

2.3 单因素分析结果统计 研究结果表明食管癌患者术后谵妄的发生与高龄($P = 0.007$)、既往精神疾病史($P = 0.0001$)呈正相关(表1). 谵妄患者与非谵妄患者在肿瘤部位、临床分期、组织学分型、手术时间、麻醉时间、失血量之间的差异均无统计学意义(表2). 谵妄患者与非谵妄患者相比, 术后机械通气时间、术后ICU住院时间和术后经口禁食水时间均显著延长($P = 0.0001$、0.0001、0.0001)、术后发生并发症的

表 2 谵妄患者与非谵妄患者手术资料统计表

变量	全部患者	谵妄患者	非谵妄患者	*P*值
n	124	60	64	
肿瘤部位*n*(%)				0.944
颈段	6(4.8)	2(3.3)	4(6.3)	
胸上段	12(9.7)	7(11.7)	5(7.8)	
胸中段	62(50.0)	30(50.0)	32(50.0)	
胸下段	31(25.0)	15(25.0)	16(25.0)	
腹段	6(4.8)	3(5.1)	3(4.7)	
多部位	7(5.6)	4(6.7)	3(4.7)	
临床TNM分期*n*(%)				0.194
I期	32(25.8)	16(26.7)	16(25.0)	
II期	52(41.9)	30(50.0)	22(34.4)	
III期	34(27.4)	12(20.0)	22(34.4)	
IV期	6(4.8)	2(3.3)	4(6.3)	
组织学分型*n*(%)				0.948
鳞癌	120(96.8)	58(96.7)	62(96.9)	
腺癌	4(3.2)	2(3.3)	2(3.1)	
手术时间(min)	432.5 ± 121.8	442.6 ± 132.6	422.4 ± 111.0	0.263
麻醉时间(min)	543.8 ± 136.9	548.2 ± 142.6	539.4 ± 131.2	0.768
失血量(mL)	506.3 ± 496.8	533.4 ± 529.7	479.2 ± 463.9	0.461

表 3 谵妄患者与非谵妄患者术后资料统计表

变量	全部患者	谵妄患者	非谵妄患者	*P*值
n	124	60	64	
术后机械通气时间(h)	12.7 ± 5.6	15.3 ± 6.8	10.1 ± 4.4	0.0001
术后ICU住院时间(d)	7.6 ± 2.4	9.4 ± 3.3	5.8 ± 1.5	0.0001
术后经口禁食水时间(d)	6.3 ± 1.7	8.2 ± 3.1	4.4 ± 0.3	0.0001
术后并发症*n*(%)	85(68.5)	49(81.7)	36(56.3)	0.002

■应用要点

本文对进一步研究预防及治疗食管癌患者术后谵妄有一的指导意义, 可促进手术后患者的快速康复.

几率显著升高($P = 0.002$, 表3).

3 讨论

我们的结果表明食管癌术后谵妄的发生率为48.4%, 这与Takeuchi等报道的50%[17]以及其他研究报道的术后谵妄在髋部骨折和心脏手术术后的发生率分别为28%-60%和30%-73%相一致[6,10-13,24], 但也有少数研究报道术后谵妄的发生率为11%-23%[18,19], 甚至更低(6.7%)[25]. 不过, 由于我们对谵妄确诊标准的更加细化, 使抑制型和混合型谵妄患者的确诊率大大提高, 使得我们术后谵妄的发生率较有关研究可能更大. 在我们的研究中, 大多数患者谵妄首次发作时间为术后第3天(25/60, 41.7%)和第2天(13/60, 21.7%). 60例谵妄患者中, 39例(65.0%)在3 d内恢复, 11例(18.3%)在4-6 d内恢复, 10例(16.7%)谵妄持续时间超过1 wk. 这表明临床医生必须在术后1 wk, 尤其是前5 d内密切关注患者精神症状, 防止术后谵妄的发生.

众多研究均表明, 高龄是术后谵妄发生的高危因素[9,12,17], 年龄越大, 术后出现精神障碍的概率越高[26], 更有研究发现, 60岁以上患者术后精神障碍的发生率为年轻人的4倍以上[27]. 这与我们的研究结果相一致. 因为高龄患者通常伴有更多的年龄相关性疾病[28,29], 而这些疾病与术后谵妄表现出一定的相关性[17]. 并且随着年龄的增长, 神经细胞衰亡增多, 脑组织本身发生退行性改变, 大脑功能及承受力均较年轻人降低. 因此, 高龄食管癌患者在食管切除术后更应得到广泛关注.

我们的研究结果表明术后谵妄与术后机械通气时间、术后ICU住院时间、术后经口禁食

■同行评价
本文以食管癌术后谵妄作为研究对象, 对手术后患者康复具有一定的研究意义, 并且有临床应用价值.

水时间以及术后并发症之间均有着密切的关系. 术后机械通气时间、术后ICU住院时间以及术后经口禁食水时间的延长, 均会引起机体应激反应, 引发机体神经、内分泌、内稳态改变, 从而诱发或加重术后谵妄. 为减少机体应激反应, 丹麦医师Wilmore等[30]提出了加速康复外科理念, 其核心则为通过减少或减轻患者对外科手术所产生的应激反应, 缩短术后康复进程, 提高康复速度与康复质量. 采取的措施可概括为3个方面: 一是术前患者体质和精神两方面的准备; 二是减少治疗措施的应激性; 三是阻断传入神经对应急信号的传导. 综观这些措施, 术后尽早拔除气管插管、减少ICU住院时间、术后早期进食[31]就成为了减少术后应激, 从而减少术后谵妄发生率的有效措施. 按照术后谵妄与术后并发症的发生时间上来说, 谵妄的发生通常早于术后并发症, 而这似乎表明术后谵妄可以导致术后并发症的发生. Gallinat等[32]认为术后肺部并发症, 高血压脑病等造成脑缺氧、脑水肿, 急性肾功能不全引起的代谢物潴留、电解质平衡紊乱、代谢性酸中毒以及感染等, 均可引发精神障碍. Kaneko等[33]证实, 术后发生精神障碍患者的其他并发症和死亡率均显著增加. 这说明, 无论术后谵妄与术后并发症的发生顺序如何, 二者之间均有着密切的关系, 术后谵妄更会增加患者术后死亡率. 因此, 密切关注食管癌患者术后谵妄的发生至关重要.

总之, 食管癌患者的术后谵妄不容忽视, 谵妄的发生与高龄、术后机械通气时间、术后ICU住院时间、术后经口禁食水时间、术后并发症的发生均表现出显著的相关性. 我们必须对其密切监测并妥善处理, 以促进术后恢复、改善远期预后. 与此同时, 我们仍需做进一步的研究以确定术后谵妄的明确影响因素并就如何预防、治疗术后谵妄的发生提出合理化方案.

4 参考文献

1 Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010; 127: 2893-2917 [PMID: 21351269 DOI: 10.1002/ijc.25516]
2 Ando N, Ozawa S, Kitagawa Y, Shinozawa Y, Kitajima M. Improvement in the results of surgical treatment of advanced squamous esophageal carcinoma during 15 consecutive years. *Ann Surg* 2000; 232: 225-232 [PMID: 10903602 DOI: 10.1097/00000658-200008000-00013]
3 Chang AC, Lee JS. Resection for esophageal cancer in the elderly. *Thorac Surg Clin* 2009; 19: 333-343 [PMID: 20066945 DOI: 10.1016/j.thorsurg.2009.06.002]
4 American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders. 4th edition. Washington, DC: American Psychiatric Association; 1994
5 Lipowski ZJ. Transient cognitive disorders (delirium, acute confusional states) in the elderly. *Am J Psychiatry* 1983; 140: 1426-1436 [PMID: 6624987]
6 Edlund A, Lundström M, Lundström G, Hedqvist B, Gustafson Y. Clinical profile of delirium in patients treated for femoral neck fractures. *Dement Geriatr Cogn Disord* 1999; 10: 325-329 [PMID: 10473932 DOI: 10.1159/000017163]
7 Francis J, Martin D, Kapoor WN. A prospective study of delirium in hospitalized elderly. *JAMA* 1990; 263: 1097-1101 [PMID: 2299782 DOI: 10.1001/jama.263.8.1097]
8 Inouye SK, van Dyck CH, Alessi CA, Balkin S, Siegal AP, Horwitz RI.Clarifying confusion: the confusion assessment method. A new method for detection of delirium. *Ann Intern Med* 1991; 113: 941-948
9 Marcantonio ER, Goldman L, Mangione CM, Ludwig LE, Muraca B, Haslauer CM, Donaldson MC, Whittemore AD, Sugarbaker DJ, Poss R. A clinical prediction rule for delirium after elective noncardiac surgery. *JAMA* 1994; 271: 134-139 [PMID: 8264068 DOI: 10.1001/jama.271.2.134]
10 Hammeke TA, Hastings JE. Neuropsychologic alterations after cardiac operation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1988; 96: 326-331 [PMID: 3260980]
11 Smith LW, Dimsdale JE. Postcardiotomy delirium: conclusions after 25 years? *Am J Psychiatry* 1989; 146: 452-458 [PMID: 2929744]
12 Dyer CB, Ashton CM, Teasdale TA. Postoperative delirium. A review of 80 primary data-collection studies. *Arch Intern Med* 1995; 155: 461-465 [PMID: 7864702 DOI: 10.1001/archinte.155.5.461]
13 Rudolph JL, Babikian VL, Birjiniuk V, Crittenden MD, Treanor PR, Pochay VE, Khuri SF, Marcantonio ER. Atherosclerosis is associated with delirium after coronary artery bypass graft surgery. *J Am Geriatr Soc* 2005; 53: 462-466 [PMID: 15743290 DOI: 10.1111/j.1532-5415.2005.53165.x]
14 Parikh SS, Chung F. Postoperative delirium in the elderly. *Anesth Analg* 1995; 80: 1222-1223 [DOI: 10.1213/00000539-199506000-00027]
15 Bucerius J, Gummert JF, Borger MA, Walther T, Doll N, Falk V, Schmitt DV, Mohr FW.Predictors of delirium after cardiac surgery delirium: effect of beating-heart (off-pump) surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2004; 127: 57-64 [DOI: 10.1016/S0022-5223(03)01281-9]
16 Rothenhäusler HB, Grieser B, Nollert G, Reichart B, Schelling G, Kapfhammer HP. Psychiatric and psychosocial outcome of cardiac surgery with cardiopulmonary bypass: a prospective 12-month follow-up study. *Gen Hosp Psychiatry* 2005; 27: 18-28 [PMID: 15694215 DOI: 10.1016/j.genhosppsych.2004.09.001]
17 Takeuchi M, Takeuchi H, Fujisawa D, Miyajima K, Yoshimura K, Hashiguchi S, Ozawa S, Ando N, Shirahase J, Kitagawa Y, Mimura M. Incidence and risk factors of postoperative delirium in patients with esophageal cancer. *Ann Surg Oncol* 2012; 19: 3963-3970 [PMID: 22699802 DOI: 10.1245/s10434-012-2432-1]
18 Low DE, Kunz S, Schembre D, Otero H, Malpass T, Hsi A, Song G, Hinke R, Kozarek RA. Esophagec-

tomy--it's not just about mortality anymore: standardized perioperative clinical pathways improve outcomes in patients with esophageal cancer. *J Gastrointest Surg* 2007; 11: 1395-1402; discussion 1402 [PMID: 17763917 DOI: 10.1007/s11605-007-0265-1]
19 Isohata N, Naritaka Y, Shimakawa T, et al. Esophageal cancer surgery in elderly patients 80 years of age or older. *Ann Cancer Res Ther* 2010; 18: 50-53 [DOI: 10.4993/acrt.18.50]
20 Chang YL, Tsai YF, Lin PJ, Chen MC, Liu CY. Prevalence and risk factors for postoperative delirium in a cardiovascular intensive care unit. *Am J Crit Care* 2008; 17: 567-575 [PMID: 18978241]
21 Brouquet A, Cudennec T, Benoist S, Moulias S, Beauchet A, Penna C, Teillet L, Nordlinger B. Impaired mobility, ASA status and administration of tramadol are risk factors for postoperative delirium in patients aged 75 years or more after major abdominal surgery. *Ann Surg* 2010; 251: 759-765 [PMID: 20224380 DOI: 10.1097/SLA.0b013e3181c1cfc9]
22 Tei M, Ikeda M, Haraguchi N, Takemasa I, Mizushima T, Ishii H, Yamamoto H, Sekimoto M, Doki Y, Mori M. Risk factors for postoperative delirium in elderly patients with colorectal cancer. *Surg Endosc* 2010; 24: 2135-2139 [PMID: 20177939 DOI: 10.1007/s00464-010-0911-7]
23 中华医学会精神科分会. CCMD-3中国精神障碍分类与诊断标准. 第3版. 济南: 山东科学技术出版社, 2001: 5-71
24 Lee KH, Ha YC, Lee YK, Kang H, Koo KH. Frequency, risk factors, and prognosis of prolonged delirium in elderly patients after hip fracture surgery. *Clin Orthop Relat Res* 2011; 469: 2612-2620 [PMID: 21327416 DOI: 10.1007/s11999-011-1806-1]
25 黄春, 黎雪梅. 食管癌术后精神障碍发生原因分析及对策. 四川肿瘤防治 2007; 20: 243-244
26 沈渔邨. 精神病学. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 1989: 68
27 Johnson T, Monk T, Rasmussen LS, Abildstrom H, Houx P, Korttila K, Kuipers HM, Hanning CD, Siersma VD, Kristensen D, Canet J, Ibañaz MT, Moller JT. Postoperative cognitive dysfunction in middle-aged patients. *Anesthesiology* 2002; 96: 1351-1357 [PMID: 12170047 DOI: 10.1097/00000542-200206000-00014]
28 Colapinto ND. Is age alone a contraindication to major cancer surgery? *Can J Surg* 1985; 28: 323-326 [PMID: 2410090]
29 Barlow AP, Zarifa Z, Shillito RG, Crumplin MK, Edwards E, McCarthy JM. Surgery in a geriatric population. *Ann R Coll Surg Engl* 1989; 71: 110-114 [PMID: 2705717]
30 Wilmore DW. From Cuthbertson to fast-track surgery: 70 years of progress in reducing stress in surgical patients. *Ann Surg* 2002; 236: 643-648 [PMID: 12409671 DOI: 10.1097/00000658-200211000-00015]
31 Correia MI, da Silva RG. The impact of early nutrition on metabolic response and postoperative ileus. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2004; 7: 577-583 [PMID: 15295279 DOI: 10.1097/00075197-200409000-00011]
32 Gallinat J, Moiler H. Postoperative delirium: risk factors, prophylaxis and treatment. *Anaesthesis* 1999; 48: 507-518 [DOI: 10.1007/s001010050741]
33 Kaneko T, Takahashi S, Naka T, Hirooka Y, Inoue Y, Kaibara N. Postoperative delirium following gastrointestinal surgery in elderly patients. *Surg Today* 1997; 27: 107-111 [PMID: 9017985 DOI: 10.1007/BF02385897]

编辑 李军亮 电编 鲁亚静

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

本刊讯 2011-12-02, 中国科学技术信息研究所在北京发布2010年中国科技论文统计结果, 经过中国精品科技期刊遴选指标体系综合评价, 《世界华人消化杂志》被评为2011年度中国精品科技期刊. 中国精品科技期刊以其整体的高质量示范作用, 带动我国科技期刊学术水平的提高. 精品科技期刊的遴选周期为三年. (《世界华人消化杂志》编辑部)

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2013年4月18日; 21(11): 1020-1023
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

拉米夫定联合阿德福韦酯治疗慢性乙型肝炎合并急性/亚急性肝衰竭的疗效

张振英

■背景资料
我国为乙型肝炎高发区, 乙型肝炎病毒(HBV)导致的急性或亚急性肝衰竭并不少见. 尽管治疗方法在不断进步, 但肝衰竭患者病死率仍较高.

张振英, 河南开封市传染病医院 河南省开封市 475001
张振英, 副主任医师, 主要从事重症肝病的临床诊治与研究.
作者贡献分布: 本文由张振英独立完成.
通讯作者: 张振英, 副主任医师, 475001, 河南省开封市铁塔西街2号, 开封市传染病医院. zhenyingdifan@yahoo.com.cn
收稿日期: 2013-01-15 修回日期: 2013-02-21
接受日期: 2013-03-14 在线出版日期: 2013-04-18

Efficacy of lamivudine combined with adefovir dipivoxil in management of chronic hepatitis B with acute or sub-acute liver failure

Zhen-Ying Zhang

Zhen-Ying Zhang, Kaifeng Infectious Diseases Hospital, Kaifeng 475001, Henan Province, China
Correspondence to: Zhen-Ying Zhang, Associate Chief Physician, Kaifeng Infectious Diseases Hospital, 2 Tieta West Street, Kaifeng 475001, Henan Province, China. zhenyingdifan@yahoo.com.cn
Received: 2013-01-15 Revised: 2013-02-21
Accepted: 2013-03-14 Published online: 2013-04-18

Abstract

AIM: To investigate the efficacy of lamivudine combined with adefovir dipivoxil in the management of chronic hepatitis B with acute or sub-acute liver failure.

METHODS: Thirty-four chronic hepatitis B patients with acute or sub-acute liver failure were treated with a combination of lamivudine and adefovir, apart from traditional internal therapy. Fifty-four patients who were treated with traditional internal therapy only during the same period were used as controls. The results were compared between the two groups.

RESULTS: Significantly lower levels of serum total bilirubin, alanine aminotransferase and HBV DNA were detected in the combination group compared with the control group (242.7 μmol/L ± 72.5 μmol/L *vs* 347.4 μmol/L ± 97.6 μmol/L, 140.2 U/L ± 59.0 U/L *vs* 244.1 U/L ± 65.1 U/L, 4.22 copies/L ± 1.02 copies/L *vs* 6.37 copies/L ± 1.35 copies/L). Prothrombin activity was significantly higher at weeks 4, 8 and 12 in the treatment group than in the control group (55.2% ± 11.2% *vs* 30.9% ± 11.7%, 78.3% ± 27.8% *vs* 53.6% ± 17.1%, 96.4% ± 20.1% *vs* 72.7% ± 28.3%). The mortality at weeks 24 and 48 in the treatment group was significantly lower than that in the control group (14.7% *vs* 33.3%, 14.7% *vs* 35.2%).

CONCLUSION: Lamivudine combined with adefovir is more effective than the traditional internal therapy in the management of acute or sub-acute liver failure associated with chronic hepatitis B.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Chronic hepatitis B; Liver failure; Lamivudine; Adefovir dipivoxil

Zhang ZY. Efficacy of lamivudine combined with adefovir dipivoxil in management of chronic hepatitis B with acute or sub-acute liver failure. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(11): 1020-1023 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1020.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i11.1020

摘要

目的: 观察拉米夫定联合阿德福韦酯治疗慢性乙型肝炎合并急性或亚急性肝衰竭的疗效.

方法: 在传统综合疗法的基础上加用拉米夫定和阿德福韦酯治疗合并急性/亚急性肝衰竭的慢性乙型肝炎患者34例, 并与同一时期采用传统疗法的54例慢性乙型肝炎合并急性/亚急性肝衰竭病例进行对照观察.

结果: 各监测时间点, 治疗组血清总胆红素水平及血清丙氨酸氨基转移酶水平均显著低于对照组(如治疗后4 wk治疗组检测值为242.7 μmol/L±72.5 μmol/L和140.2 U/L±59.0 U/L, 而对照组检测值为347.4 μmol/L±97.6 μmol/L和244.1 U/L±65.1 U/L), 血HBV DNA水平亦显著低于对照组同期检测值(如治疗后4 wk治

■同行评议者
张进祥, 副教授, 华中科技大学同济医学院附属协和医院

疗组检测值为4.22 copies/L±1.02 copies/L, 而对照组检测值为6.37 copies/L±1.35 copies/L); 治疗组治疗后4 wk、8 wk和12 wk血浆凝血酶原活动度明显高于对照组(治疗组检测值分别为55.2%±11.2%、78.3%±27.8%和96.4%±20.1%, 而对照组检测值分别为30.9%±11.7%、53.6%±17.1%和72.7%±28.3%); 治疗组24 wk和48 wk病死率均为14.7%, 显著低于对照组(分别为33.3%和35.2%).

结论: 拉米夫定联合阿德福韦酯用于治疗合并急性/亚急性肝衰竭的慢性乙型肝炎患者, 疗效明显优于传统综合疗法.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 慢性乙型肝炎; 肝衰竭; 拉米夫定; 阿德福韦酯

核心提示: 对比研究了一定时期内采用抗病毒治疗和未用抗病毒治疗的急性/亚急性肝衰竭患者的血液生化学指标、病毒学指标及病死率, 发现拉米夫定联合阿德福韦酯可有效改善上述指标.

张振英. 拉米夫定联合阿德福韦酯治疗慢性乙型肝炎合并急性/亚急性肝衰竭的疗效. 世界华人消化杂志 2013; 21(11): 1020-1023
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1020.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i11.1020

0 引言

抗乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)药物特别是核苷(酸)类药物的出现, 使活动性慢性乙型肝炎(慢性乙型肝炎)及肝硬化的疗效有明显提高, 但合并急性或亚急性肝功能衰竭者病死率仍很高, 传统的保肝综合治疗并不能明显降低病死率. 近年有文献报告核苷(酸)类药物可提高失代偿期肝硬化及肝功能不全慢性乙型肝炎患者的疗效及存活率, 提示抗HBV药物对于合并肝衰竭的重症慢性乙型肝炎可能有一定治疗作用[1-3]. 我们自2009-01/2012-06采用拉米夫定联合阿德福韦酯治疗合并急性/亚急性肝衰竭的慢性乙型肝炎患者34例, 并与同一时期采用传统疗法的54例慢性乙型肝炎合并急性/亚急性肝衰竭病例进行对照观察, 取得较好疗效. 现总结报告如下.

1 材料和方法

1.1 材料 治疗对象包括伴有急性或亚急性肝衰竭的慢性乙型肝炎患者88例, 分为治疗组和对照组. 治疗组为慢性乙型肝炎患者34例(男32例, 女2例), 平均年龄34.6岁(25-51岁). 对照组为慢性乙型肝炎患者54例(男50例, 女4例), 平均年龄35.8岁(21-54岁). 两组患者既往均有6 mo以上的慢性乙型肝炎病史, 入院时均伴有急性或亚急性肝衰竭. 入选病例均符合2006年中华医学会感染病学分会肝衰竭和人工肝学组、中华医学会肝病与人工肝学组联合制定的《肝衰竭诊疗指南》中关于病毒性肝炎乙型慢性加急性或亚急性肝衰竭的临床诊断标准[4], 且排除合并严重心肺疾病、肝肾综合征、大量腹水、II度及II度以上肝性脑病、原发性肝癌以及伴有其他肝炎病毒感染的病例. 两组病例在年龄、性别、病程、肝功能指标等方面具有可比性(P>0.05).

1.2 方法

1.2.1 治疗方法: 两组病例均采取保肝综合治疗作为基础疗法, 包括保护肝细胞药物、免疫调节药物、支持治疗和对症治疗等. 治疗组病例在上述综合疗法的基础上再给予口服拉米夫定(100 mg/d)和阿德福韦酯(10 mg/d). 两组病例均于治疗4、8、12、24、36及48 wk各随访评估1次.

1.2.2 评估指标: 包括血液生化指标(总胆红素、丙氨酸氨基转移酶及凝血酶原活动度), 病毒学指标(HBV DNA定量及乙肝血清标志物), 24 wk及48 wk病死率.

统计学处理 组间比较采取t检验或χ^2检验, P<0.05表示具有统计学差异.

2 结果

2.1 两组病例血生化指标变化情况及比较 治疗后4 wk, 治疗组血清总胆红素水平及血清丙氨酸氨基转移酶水平均显著低于对照组, 而血浆凝血酶原活动度则明显高于对照组. 此后各监测时间点, 治疗组血清总胆红素水平及血清丙氨酸氨基转移酶水平均显著低于对照组, 治疗组治疗后8 wk和12 wk血浆凝血酶原活动度明显高于对照组(表1).

2.2 两组病例血病毒学指标变化情况及比较 治疗后各随访时间点, 治疗组血清HBV DNA水平呈持续下降态势, 且各时间点HBV DNA水平显著低于对照组同期检测值(表1).

2.3 两组病死率比较 治疗组有5例患者死于治疗24 wk内, 24 wk和48 wk病死率均为14.7%. 对照组治疗24 wk内有18例患者病死, 24 wk病死率为33.3%; 治疗24 wk后、48 wk内有1例病死, 48 wk总病死率为35.2%. 两组比较, 24 wk病死率和

■研发前沿
针对急性/亚急性肝衰竭的早期诊断及治疗方法仍是当前研究重点.

■创新盘点
本文对比研究一定时期内采用抗病毒治疗和未用抗病毒治疗的急性/亚急性肝衰竭患者的血液生化学指标、病毒学指标及病死率, 发现拉米夫定联合阿德福韦酯可有效改善上述指标.

表 1 两组治疗过程中血生化指标和病毒学指标的变化

分组	检测时间	*n*	总胆红素(μmol/L)	丙氨酸氨基转移酶(U/L)	凝血酶原活动度(%)	HBV DNA(lg copies/mL)
治疗组	治疗前	34	311.1 ± 81.2	287.4 ± 101.2	27.6 ± 10.6	6.34 ± 1.21
	治疗后4 wk	30	242.7 ± 72.5[a]	140.2 ± 59.0[e]	55.2 ± 11.2[i]	4.22 ± 1.02[k]
	治疗后8 wk	29	87.5 ± 21.1[a]	79.5 ± 34.5[e]	78.3 ± 27.8[g]	3.11 ± 0.89[k]
	治疗后12 wk	29	31.1 ± 11.6[a]	48.1 ± 27.6[e]	96.4 ± 20.1[g]	2.50 ± 0.90[k]
	治疗后24 wk	29	16.4 ± 10.0[a]	38.4 ± 19.8[e]	97.1 ± 21.1	2.14 ± 0.51[k]
	治疗后36 wk	29	17.1 ± 8.8[a]	39.8 ± 22.1[c]	97.0 ± 19.7	2.15 ± 0.48[k]
	治疗后48 wk	29	15.9 ± 8.9	34.5 ± 17.4[c]	98.1 ± 17.4	2.11 ± 0.34[k]
对照组	治疗前	54	320.1 ± 90.3	281.7 ± 89.1	27.4 ± 9.3	6.37 ± 1.35
	治疗后4 wk	42	347.4 ± 97.6	244.1 ± 65.1	30.9 ± 11.7	6.32 ± 1.25
	治疗后8 wk	40	266.0 ± 77.3	135.5 ± 54.0	53.6 ± 17.1	6.13 ± 1.91
	治疗后12 wk	36	113.4 ± 55.6	65.2 ± 16.3	72.7 ± 28.3	6.25 ± 1.90
	治疗后24 wk	36	57.4 ± 23.2	54.3 ± 21.2	98.2 ± 23.2	5.74 ± 2.01
	治疗后36 wk	36	45.7 ± 13.1	50.9 ± 21.6	97.5 ± 20.3	6.30 ± 1.51
	治疗后48 wk	35	21.9 ± 9.7	47.0 ± 19.7	98.0 ± 19.8	5.72 ± 1.47

[a]*P*<0.05、[c]*P*<0.05、[e]*P*<0.05、[g]*P*<0.05、[i]*P*<0.05、[k]*P*<0.05 *vs* 对照组治疗后相应时间.

表 2 两组病例24 wk和48 wk病死率比较

分组	检测时间	*n*	病死率*n*(%)
治疗组	治疗前	34	
	治疗24 wk内病死例数	5	5(14.7)[a]
	治疗48 wk内病死例数	5	5(14.7)[a]
对照组	治疗前	54	
	治疗24 wk内病死例数	18	18(33.3)
	治疗48 wk内病死例数	19	19(35.2)

[a]*P*<0.05 *vs* 对照组治疗后相应时间.

48 wk病死率差异均具有显著统计学意义(表2).

3 讨论

肝衰竭是临床上常见的严重肝病症候群, 病死率极高[4-6]. 以往对于慢性乙型肝炎合并急性/亚急性肝衰竭患者的治疗多采取综合性治疗, 疗效十分有限, 且起效缓慢, 因而患者可能死于与肝衰竭相关的各种并发症[7-9]. 随着核苷(酸)类抗HBV药物用于活动性慢性乙型肝炎治疗取得良好疗效, 病因治疗在慢性乙型肝炎合并肝衰竭等重症肝病治疗中的作用日益受到重视. 现有文献表明, 拉米夫定和阿德福韦酯是目前治疗失代偿性肝硬化等重症乙型肝炎较为有效的核苷(酸)类药物[1,3,10-15], 因而本研究将拉米夫定和阿德福韦酯用于伴有肝衰竭的慢性乙型肝炎患者, 有充分的理论和文献支持.

本组数据显示, 在综合疗法的基础上加用拉米夫定和阿德福韦酯治疗合并急性或亚急性肝衰竭的慢性乙型肝炎患者, 能够取得较好的疗效. 上述疗法不仅可以快速降低患者血清总胆红素和丙氨酸氨基转移酶水平、提高凝血酶原活动度, 而且可明显降低病死率. 考虑到患者血HBV DNA水平在治疗后4 wk已明显降低, 且在随访过程中均处于低水平, 提示治疗组病例肝功能改善与病死率下降的疗效与HBV被快速、持久抑制密切相关.

拉米夫定能有效抑制HBV DNA逆转录酶, 且起效迅速, 抗病毒作用显著, 但长期单独使用易导致HBV产生耐药性. 单独使用拉米夫定治疗, 患者易出现病毒学反弹, 致使病情进一步恶化. 阿德福韦酯属于腺嘌呤核苷单磷酸类似物, 并且耐药性较低, 但单独使用起效较慢. 拉米夫定联合阿德福韦酯治疗可取长补短, 既能快速有效地抑制复制, 又能防止耐药物的发生. 本组病例中无1例在随访过程中发生病毒学突破或病情加重反弹. 本组资料还显示, 该疗法安全性高, 无任何1例患者因出现不良反应而提前终止治疗.

综上所述, 本研究表明在综合疗法的基础上加用拉米夫定和阿德福韦酯治疗伴有急性/亚急性肝衰竭的慢性乙型肝炎患者, 疗效明显优于单用综合治疗者, 不仅可全面改善肝功能指标, 还能有效降低病死率. 结合其他研究显示该疗法改善肝功能的疗效可以早在治疗后2 wk就能观察到[3], 表明这一疗法确为一种有效而安全的

慢性乙型肝炎肝衰竭治疗方法.

4 参考文献

1 徐森华. 拉米夫定联合阿德福韦酯治疗乙型肝炎失代偿期肝硬化临床疗效观察. 中国医药科学 2012; 2: 106-108
2 裘强. 拉米夫定联合阿德福韦酯治疗乙肝肝衰竭疗效观察. 中国生化药物杂志 2009; 30: 197-199
3 邓艳, 陈芳, 李雷, 夏杰, 黄辉煌, 闫大伟, 孙李建. 拉米夫定联合阿德福韦酯治疗肝衰竭疗效观察. 人民军医 2012; 55: 981-982
4 中华医学会感染病分会会衰竭与人工肝学组、中华医学会肝病学分会重症肝病与人工肝学组. 肝衰竭诊疗指南. 中华肝脏病杂志 2006; 14: 643-646
5 Wlodzimirow KA, Eslami S, Chamuleau RA, Nieuwoudt M, Abu-Hanna A. Prediction of poor outcome in patients with acute liver failure-systematic review of prediction models. *PLoS One* 2012; 7: e50952 [PMID: 23272081 DOI: 10.1371/journal.pone.0050952]
6 Potts JR, Verma S. Alcoholic hepatitis: diagnosis and management in 2012. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2012; 6: 695-710 [PMID: 23237255 DOI: 10.1586/egh.12.57]
7 Yuan D, Liu F, Wei YG, Li B, Yan LN, Wen TF, Zhao JC, Zeng Y, Chen KF. Adult-to-adult living donor liver transplantation for acute liver failure in China. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 7234-7241 [PMID: 23326128 DOI: 10.3748/wjg.v18.i48.7234]
8 Jindal A, Kumar M, Sarin SK. Management of acute hepatitis B and reactivation of hepatitis B. *Liver Int* 2013; 33 Suppl 1: 164-175 [PMID: 23286861 DOI: 10.1111/liv.12081]
9 Fan HL, Yang PS, Chen HW, Chen TW, Chan DC, Chu CH, Yu JC, Kuo SM, Hsieh CB. Predictors of the outcomes of acute-on-chronic hepatitis B liver failure. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 5078-5083 [PMID: 23049217 DOI: 10.3748/wjg.v18.i36.5078]
10 汤绍辉, 吴小娟, 张嫚嫚, 王旷靖. 替比夫定与拉米夫定治疗慢性乙型肝炎疗效比较Meta分析. 解放军医学杂志 2011; 36: 573-577
11 程全红, 陈川英, 易三水, 陈芳. 阿德福韦酯和拉米夫定治疗乙肝肝硬化失代偿期的疗效观察. 实用临床医学 2009; 10: 16-17
12 Kim CH, Um SH, Seo YS, Jung JY, Kim JD, Yim HJ, Keum B, Kim YS, Jeen YT, Lee HS, Chun HJ, Kim CD, Ryu HS. Prognosis of hepatitis B-related liver cirrhosis in the era of oral nucleos(t)ide analog antiviral agents. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27: 1589-1595 [PMID: 22554121 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2012.07167.x]
13 Brown A, Goodman Z. Hepatitis B-associated fibrosis and fibrosis/cirrhosis regression with nucleoside and nucleotide analogs. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2012; 6: 187-198 [PMID: 22375524 DOI: 10.1586/egh.12.4]
14 Kurokawa M, Hiramatsu N, Oze T, Yakushijin T, Miyazaki M, Hosui A, Miyagi T, Yoshida Y, Ishida H, Tatsumi T, Kiso S, Kanto T, Kasahara A, Iio S, Doi Y, Yamada A, Oshita M, Kaneko A, Mochizuki K, Hagiwara H, Mita E, Ito T, Inui Y, Katayama K, Yoshihara H, Imai Y, Hayashi E, Hayashi N, Takehara T. Long-term effect of lamivudine treatment on the incidence of hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis B virus infection. *J Gastroenterol* 2012; 47: 577-585 [PMID: 22231575 DOI: 10.1007/s00535-011-0522-7]
15 Osakabe K, Ichino N, Nishikawa T, Sugiyama H, Kato M, Kitahara S, Hashimoto S, Kawabe N, Harata M, Nitta Y, Murao M, Nakano T, Shimazaki H, Arima Y, Suzuki K, Yoshioka K. Reduction of liver stiffness by antiviral therapy in chronic hepatitis B. *J Gastroenterol* 2011; 46: 1324-1334 [PMID: 21822591 DOI: 10.1007/s00535-011-0444-4]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

■同行评价

本文结果表明拉米夫定联合阿德福韦酯治疗肝脏功能衰竭有明显疗效, 可降低死亡率, 有一定临床应用价值.

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费. 审稿周期及发表周期不变. (《世界华人消化杂志》编辑部)

世界华人消化杂志 2013年4月18日; 21(11): 1024-1028
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

氩氦刀冷冻消融挽救治疗肝脏转移瘤46例

张炜浩, 李保国, 司同国, 于海鹏, 郭 志

■背景资料
肝脏转移为恶性肿瘤患者预后差的主要原因之一, 手术为主要治疗手段, 而对于失去手术机会的肝转移患者, 普通放化疗疗效欠佳. 近年来, 针对肝脏转移瘤不断提出新的治疗理念与方法, 以期能提高肝转移患者的生活质量及改善预后.

张炜浩, 李保国, 司同国, 于海鹏, 郭志, 天津医科大学附属肿瘤医院介入治疗科 天津市肿瘤防治重点实验室 天津市 300060
张炜浩, 在读硕士, 主要从事肿瘤微创介入治疗与影像学诊断的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81001002
作者贡献分布: 本研究由郭志指导设计; 研究过程由张炜浩、司同国及于海鹏操作完成; 数据分析由张炜浩与李保国完成; 本论文写作由张炜浩完成.
通讯作者: 郭志, 教授, 300060, 天津市河西区环湖西路体院北环湖西路, 天津医科大学附属肿瘤医院介入治疗科.
guozh@vip.163.com
电话: 022-23340123
收稿日期: 2013-01-04 修回日期: 2013-03-05
接受日期: 2013-03-14 在线出版日期: 2013-04-18

Cryoablation for salvage therapy of liver metastases: An analysis of 46 cases

Wei-Hao Zhang, Bao-Guo Li, Tong-Guo Si, Hai-Peng Yu, Zhi Guo

Wei-Hao Zhang, Bao-Guo Li, Tong-Guo Si, Hai-Peng Yu, Zhi Guo, Department of Interventional Therapy, Cancer Institute and Hospital, Key Laboratory of Cancer Prevention and Treatment of Tianjin City, Tianjin Medical University, Tianjin 300060, China
Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 81001002
Correspondence to: Zhi Guo, Professor, Department of Interventional Therapy, Cancer Institute and Hospital, Key Laboratory of Cancer Prevention and Treatment of Tianjin City, Tianjin Medical University, Tianjin 300060, China. guozh@vip.163.com
Received: 2013-01-04 Revised: 2013-03-05
Accepted: 2013-03-14 Published online: 2013-04-18

Abstract

AIM: To assess the efficacy and safety of cryoablation as a salvage therapy for liver metastases.

METHODS: The clinical data for 46 patients with liver metastases who underwent cryoablation as a salvage therapy were analyzed retrospectively. The maximum diameter of individual lesion ranged from 1.8 cm to 13.0 cm, with a mean value of 5.32 cm ± 2.5 cm. The short-term effective rate, 1-year survival rate, quality of life, and complications after argon-helium cryoablation were assessed.

RESULTS: The clinical effective rates at 1 mo, 3 mo and 6 mo were 82.60%, 75.56% and 69.77%, respectively. The 1-year survival rate was 76.08%, and the quality of life was significantly improved ($P < 0.001$). Main adverse effects, such as cryoshock, hepatic bleeding and renal insufficiency, were not observed in all patients.

CONCLUSION: Cryoablation is an effective, safe and minimally-invasive therapy for liver metastases. It is a good alternative to conventional treatments in patients with liver metastases who were not suitable for surgical removal or chemotherapy.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Cryoablation; Liver metastases; Salvage therapy

Zhang WH, Li BG, Si TG, Yu HP, Guo Z. Cryoablation for salvage therapy of liver metastases: An analysis of 46 cases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(11): 1024-1028 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1024.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i11.1024

摘要

目的: 探讨氩氦刀冷冻消融挽救治疗肝脏转移性肿瘤的有效性及安全性.

方法: 回顾分析46例接受氩氦刀冷冻挽救治疗的肝脏转移瘤患者临床资料, 肿瘤最大长径为1.8-13.0 cm, 平均5.32 cm±2.5 cm. 随访评估近期临床受益率、1年生存率、生活质量、并发症.

结果: 术后1、3、6 mo患者临床受益率分别为82.60%、75.56%、69.77%, 1年患者生存率为76.08%, 生活质量明显改善($P<0.001$). 并发症轻微, 未见冷休克、肝破裂出血、肾功能不全等严重并发症.

结论: 氩氦刀冷冻消融治疗肝脏转移瘤安全有效, 创伤小, 近期临床疗效确切, 可作为失去手术机会肝转移瘤患者的一种重要挽救治疗手段.

© 2013年版权归Baishideng所有.

■同行评议者
何向辉, 教授, 天津医科大学总医院普通外科; 季国忠, 教授, 南京医科大学第二附属医院消化科

关键词: 冷冻消融; 肝转移瘤; 挽救治疗

核心提示: 氩氦刀冷冻消融挽救治疗晚期肝转移瘤患者, 不仅近期疗效确切, 而且生活质量明显改善、并发症少, 可作为失去手术机会肝转移瘤患者的一种重要挽救治疗手段.

张炜浩, 李保国, 司同国, 于海鹏, 郭志. 氩氦刀冷冻消融挽救治疗肝脏转移瘤46例. 世界华人消化杂志 2013; 21(11): 1024-1028
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1024.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i11.1024

0 引言

恶性肿瘤的肝转移是导致患者死亡的主要原因之一, 目前主要治疗手段为外科手术, 但仅有10%-20%的肝转移瘤具备手术机会[1]. 对于失去手术机会的患者, 全身化疗疗效欠佳[2,3]. 对此, 目前尚缺乏有效补救治疗手段, 临床治疗棘手. 氩氦刀冷冻消融是肝脏恶性肿瘤患者姑息治疗的重要微创治疗手段. 本文回顾性分析我科2008-03/2011-12应用氩氦刀冷冻消融挽救治疗46例肝转移肿瘤患者的临床资料, 探讨氩氦刀冷冻消融挽救治疗肝转移瘤患者的有效性及安全性.

1 材料和方法

1.1 材料 本组患者46例, 男17例, 女29例; 年龄34-77岁, 中位年龄59.50岁; 原发病灶为结直肠癌22例, 乳腺癌11例, 其他来源13例(胃癌3例、食管癌3例、肾癌3例、肺癌2例、输卵管癌1例、宫颈癌1例), 原发病灶均已经手术切除.

所有的患者术前均有穿刺病理或者等影像学检查证实为肝脏转移瘤, 并失去手术机会, 且对化疗无效或不适宜化疗(35例系静脉化疗无效, 11例因骨髓抑制不能耐受化疗). 肿瘤最大长径1.8-13.0 cm, 平均5.32 cm±2.5 cm. 肝功能分级为Child-Pugh A-B级, Karnofsky评分≥70分(表1).

1.2 方法

1.2.1 仪器设备: 氩氦冷冻系统(Cryocare™ surgical system)(美国Endocare公司产品), 配有直径1.7、2.0、2.4、3.0和5.0 mm插入式冷刀. CT为东芝TOSHIBA Aquilion16排螺旋CT.

1.2.2 术前准备: 术前常规行血常规、出凝血功能、肝肾功能、心肺功能检查以及增强CT或MRI检查明确肿瘤的部位、数目、大小以及邻近重要血管、胆管等结构关系. 所有患者均被告知有关冷冻治疗的指南, 并签订手术志愿协议书, 符合伦理规范.

1.2.3 手术方法: (1)氩氦刀冷冻治疗: CT扫描肿瘤靶区后定位. 根据肿瘤部位、大小选择穿刺点、冷冻探针入路角度及数量. 根据预计消融范围进行探针分布与适形设计. CT扫描确认冷冻探针穿刺靶肿瘤后启动冷冻治疗, 共2个循环, 每循环10-15 min, 间隔3 min. 冷冻完成第2个治疗循环后, 启动氦气升温, 安全撤出冷冻器.术后随访CT以明确有无出血、气胸等并发症发生并对症处理; (2)肝动脉化疗栓塞(transcatheter arterial chemoembolization, TACE): 冷冻治疗术后2 wk, 25例患者接受了TACE. 这些患者在冷冻治疗前肿瘤较大、多发或临近重要血管, 术中根据原发肿瘤组织学类型不同而选用相应敏感的药物(常用化疗药物: 氟尿嘧啶类、铂类等), 并采用超液态碘化油与化疗药物混合制成乳剂作栓塞剂. 全部技术操作均在心电、血压、脉搏监测下进行.

1.2.4 随访评价: (1)临床受益状况评估: 冷冻术后每月行增强CT或MRI检查观察肿瘤大小及密度变化. 按照实体瘤RECIST 1.1标准[4]评价病灶变化, 并评估术后1、3、6 mo的临床受益率, 并随访1年生存率. 临床受益率定义为CR+PR+SD. 完全缓解(complete response, CR)是指所有目标病灶动脉期的增强显影均消失; 部分缓解(partial response, PR)是指存活目标病灶(动脉期增强显影)的直径总和缩小≥30%; 疾病进展(progressive disease, PD)是指存活目标病灶(动脉期增强显影)的直径总和增加≥20%或出现新病灶; 疾病稳定(stable disease, SD)是指缩小未达PR或增加未到PD; (2)生活质量状况评估: 评估患者术前、术后3 mo患者生活质量. 评估参照欧洲癌症治疗功能评价系统第4版(functional assessment of cancer therapy, FACT)评分[5]. FACT中文版是一种肿瘤相关的、适合用于我国癌症患者生命质量的测定标准. 该量表由4项27个条目构成, 其中生理状况、社会/家庭状况、功能状况各7条, 情感状况6条, 每条评分0-4分. 分值越高, 生活质量越好; (3)并发症: 评价术中及术后并发症. 采用数字分级法(numerical rating scales, NRS)评价术中、术后疼痛程度.

统计学处理 采用SPSS16.0统计软件包进行数据分析. 所有计量资料以mean±SD表示, 采用配对t检验比较治疗前后差异, Kaplan-Meier法计算临床受益率. P<0.05为差异有统计学意义.

■研发前沿
氩氦刀冷冻消融术是一种迅速发展的针对肿瘤靶区的微创治疗手段, 其临床应用价值正在逐步显现. 而氩氦刀冷冻消融治疗联合其他治疗手段能否使患者进一步受益是研究热点.

■创新盘点

分析评估46例肝转移瘤患者氩氦刀冷冻消融术后近期有效性及安全性, 并重点应用FACT中文版癌症患者生命质量测定标准探讨了患者生活质量变化及原因, 从而得出氩氦刀冷冻挽救治疗肝转移瘤患者的应用价值.

表 1 46例肝转移瘤患者基本临床资料

因素	*n*
中位年龄(岁)	59.50(34-77)
性别	
男/女	17/29
Child-Pugh分级	
A/B	30/16
原发病灶	
结直肠癌	22
乳腺癌	11
其他癌	13
同时伴发肝转移	
是/否	12/34
累及肝叶	
单叶/双叶	18/28
转移灶数目	
单发/多发	8/38
肿瘤最大径(cm)	
≤3	10
3-5	21
>5	15
至肝转移间隔(mo)	
≤12	19
>12	27
冷冻次数	
1次/2-3次	30/16
术后TACE	
是/否	25/21

2 结果

2.1 *临床受益状况* 本组氩氦刀冷冻消融治疗后1、3、6 mo患者临床受益率分别为82.60%、75.56%、69.77%(表2). 其中1例肺癌肝转移患者, 术后2 mo死于肺感染、呼吸功能衰竭. 1年存活率为76.08%(35/46).

2.2 *生活质量评估* 术后3 mo, 除社会/家庭状况模块外, 其他模块及总分均较术前改善(P<0.001). 其中功能状态和生理状态最为明显(表3).

2.3 *并发症* 本组病例无冷休克、肝破裂出血、胆瘘、靶外器官冻伤等严重并发症发生. 其他常见并发症发生状况如下: (1)疼痛: 氩氦刀冷冻治疗术中或术后48 h内疼痛4-6级16例, 7-10级7例; (2)发热: 冷冻治疗后2-5 d, 体温37.5 ℃-39.5 ℃患者占39.13%(18/46), 经降温等对症处理后均恢复正常; (3)右侧少量胸腔积液5例, 未行特殊治疗, 1 mo后复查CT时已吸收; (4)3例肝被膜下少量出血, 予止血对症治疗后病情控制; (5)肝功能轻度损害6例: 冷冻术后1 wk复查肝功能指标谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)轻度升高, 经保肝治疗后3-5 d恢复正常; (6)肌红蛋白尿2例, 予补液、碱化等对症治疗后恢复正常.

3 讨论

肝脏转移为恶性肿瘤患者的主要的死亡原因之一, 而肝脏是消化系及身体其他部位恶性肿瘤最易发生转移的部位. 目前外科手术切除仍是主要治疗手段, 外科术后5年生存率为25%-40%, 而能获得手术切除者却仅占10%-20%[1,6]. 传统的全身静脉化疗等对肝转移瘤的治疗不良反应大, 作用有限[3].

3.1 *疗效分析* 氩氦刀冷冻消融治疗作为一种微创治疗手段, 在抗肿瘤治疗领域的应用价值正逐渐引起临床重视. 他的优势一方面体现在出血少、疼痛不明显或无痛, 短期内降低肿瘤负荷, 同时不受肿瘤分化程度影响, 对放疗、化疗低敏感性肿瘤同样有效杀伤; 另一方面冷冻还能刺激机体免疫反应, 激活全身抗肿瘤免疫发挥抗癌作用[7]. 目前, 冷冻消融治疗已成为国内外前列腺癌的首选治疗手段[8], 并在肝癌、肾癌、结直肠肝转移瘤等治疗领域应用较广[9-11]. 本组采用氩氦刀冷冻消融挽救治疗46例肝转移瘤患者近期临床受益明显, 1年生存率达76.08%, 且术后患者生活质量明显提高, 并发症轻微, 提示冷冻消融治疗是有效的补救治疗方法, 值得深入探讨.

Pathak等[12]通过对1994-01/2010-01期间发表的26篇结直肠癌肝转移冷冻治疗文献系统评价显示患者术后1年生存率达84.0%. Xu等[13]对280例接受冷冻治疗的结直肠癌肝转移癌患者随访发现, 近期临床受益率为80.0%, 术后1年、2年生存率分别为78.0%、62.0%. 本研究近期临床受益率与上述报道类似, 充分体现了其作为挽救治疗的应用价值. 但1年生存率低于上述报道, 原因分析为本组患者失去外科手术机会并对化疗无效, 临床分期较晚, 机体功能较差所致. Niu等[14]对124例肝转移患者行外科切除联合冷冻治疗后随访发现, 转移瘤>4 cm、肝内复发是预后较差的独立影响因素. 杨茂等[15]对90例肝癌冷冻术后复发患者随访分析认为, 肿瘤最大直径>3 cm、邻近大血管是冷冻术后早期复发的独立影响因素. 我们分析认为直径>3 cm的瘤体与肝脏重要血管等邻近, 虽然术中行多点穿刺融合治疗以扩大有效治疗范围, 但不可避免的会影响冷冻消融效果, 同时由于“热池效应”的

表 2 冷冻消融术后疗效评价

术后时间(mo)	n	完全缓解(n)	部分缓解(n)	疾病稳定(n)	疾病进展(n)	临床受益率(%)
1	46	0	19	19	8	82.60
3	45	1	17	16	10	75.56
6	43	1	15	14	13	69.77

表 3 冷冻消融联合TACE前后FACT评分 (mean ± SD)

生活质量参数	冷冻治疗前	冷冻后3 mo	t值	P值
生理状况	20.00 ± 1.49	21.30 ± 1.41	8.510	<0.001
社会/家庭状况	16.40 ± 2.07	16.90 ± 2.13	1.861	0.096
情感状况	18.70 ± 1.16	20.20 ± 1.32	6.708	<0.001
功能状况	19.80 ± 1.32	21.40 ± 1.43	7.236	<0.001
量表总分	74.70 ± 3.97	79.70 ± 4.01	23.717	<0.001

作用, 邻近血管的肿瘤边缘细胞不能完全坏死. 故本组25例复发瘤体较大或临近重要大血管的患者在冷冻术后2 wk行TACE治疗, 一方面处理仍残存活性的肿瘤, 另一方面控制肿瘤坏死后周边新生的毛细血管以提高临床疗效. 同时因冷冻治疗的便利性、微创性, 对16例一般状况良好的患者补充行第2-3次冷冻治疗以最大降低肿瘤负荷, 降低复发率.

3.2 生活质量 Ruers等[2]对结肠癌肝转移瘤消融治疗组和全身化疗组对比研究发现, 消融术后患者生活质量较单纯化疗组明显增高(P<0.01). 郭志等[16]认为氩氦刀冷冻治疗巨块型肝脏恶性肿瘤, 短期内可降低肿瘤负荷, 并明显提高患者生活质量. 本研究随访发现患者术后近期生活质量明显提高, 其中生理状况及功能状况较术前明显改善(P<0.001), 分析原因可能主要在于冷冻消融治疗能较大幅度的降低肿瘤负荷, 患者的腹胀、腹痛等不适症状一定程度上得到缓解, 主观感受较前好转.情感状况也较术前改善, 考虑为患者一般状态提高后, 对癌症斗争的信心增强, 对周围事物的心理感受较前上升. 社会/家庭变化无差异, 考虑可能为患者住院时间累积导致费用的增加, 以及社会、工作地位的不稳定所致.

3.3 并发症及预防 Xu等[13]对肝转移瘤冷冻治疗后报道冷休克1例(0.3%)、肝破裂出血5例(1.5%)、肾功能不全5例(1.5%)等. 本组患者未见上述严重并发症, 术后并发症主要表现为冷冻术后, 约3/5的患者发生轻度不适, 主要表现为右上腹疼痛、发热、肝功能轻度损害、胸腔积液等, 但一般为自限性, 未造成不良后果. 因此, 我们建议, 冷冻术后1-5 d应注意给予保肝、缓解水肿、止痛、降温等对症支持治疗, 以尽量降低患者术后并发症, 改善患者一般状态, 提高生活质量.

由于本组病例随访时间较短, 病例数较少, 远期生存获益情况有待观察. 另外, 氩氦刀冷冻消融治疗联合其他治疗(如: 分子靶向治疗)是否能进一步改善患者预后, 还有待于大样本、随机临床试验的研究证实.

综上所述, 氩氦刀冷冻消融挽救治疗肝脏转移瘤患者近期临床受益率高, 生活质量改善, 并发症轻微. 因此, 氩氦刀可作为一种重要的挽救治疗手段以改善患者预后, 延长患者生存时间.

■应用要点

本文从近期有效率、生活质量、并发症3方面重点评价了氩氦刀冷冻消融挽救治疗肝脏转移瘤患者的应用价值, 可为临床治疗肝脏转移瘤患者提供新思路.

4 参考文献

1 Khatri VP, Chee KG, Petrelli NJ. Modern multimodality approach to hepatic colorectal metastases: solutions and controversies. *Surg Oncol* 2007; 16: 71-83 [PMID: 17532622 DOI: 10.1016/j.suronc.2007.05.001]

2 Ruers TJ, Joosten JJ, Wiering B, Langenhoff BS, Dekker HM, Wobbes T, Oyen WJ, Krabbe PF, Punt CJ. Comparison between local ablative therapy and chemotherapy for non-resectable colorectal liver metastases: a prospective study. *Ann Surg Oncol* 2007; 14: 1161-1169 [PMID: 17195903 DOI: 10.1245/s10434-006-9312-5]

3 Alberts SR. Evolving role of chemotherapy in resected liver metastases. *J Clin Oncol* 2006; 24: 4952-4953 [PMID: 17075111 DOI: 10.1200/JCO.2006.07.9236]

4 Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, Dancey J, Arbuck S, Gwyther S, Mooney M, Rubinstein L, Shankar L, Dodd L, Kaplan R, Lacombe D, Verweij J. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer* 2009; 45: 228-247 [PMID: 19097774 DOI: 10.1016/

■同行评价
本文报道氩氦刀冷冻消融挽救治疗肝脏转移性肿瘤的有效性及安全性, 研究内容完善, 结果可靠, 讨论条理清楚, 具有一定的临床意义.

j.ejca.2008.10.026]
5 Bonomi AE, Cella DF, Hahn EA, Bjordal K, Sperner-Unterweger B, Gangeri L, Bergman B, Willems-Groot J, Hanquet P, Zittoun R. Multilingual translation of the Functional Assessment of Cancer Therapy (FACT) quality of life measurement system. *Qual Life Res* 1996; 5: 309-320 [PMID: 8763799 DOI: 10.1007/BF00433915]
6 Moug SJ, Horgan PG. The role of synchronous procedures in the treatment of colorectal liver metastases. *Surg Oncol* 2007; 16: 53-58 [PMID: 17517503 DOI: 10.1016/j.suronc.2007.04.005]
7 Sabel MS. Cryo-immunology: a review of the literature and proposed mechanisms for stimulatory versus suppressive immune responses. *Cryobiology* 2009; 58: 1-11 [PMID: 19007768 DOI: 10.1016/j.cryobiol.2008.10.126]
8 Cohen JK, Miller RJ, Ahmed S, Lotz MJ, Baust J. Ten-year biochemical disease control for patients with prostate cancer treated with cryosurgery as primary therapy. *Urology* 2008; 71: 515-518 [PMID: 18342200 DOI: 10.1016/j.urology.2007.09.059]
9 Seifert JK, Junginger T. Cryotherapy for liver tumors: current status, perspectives, clinical results, and review of literature. *Technol Cancer Res Treat* 2004; 3: 151-163 [PMID: 15059021]
10 Tanagho YS, Roytman TM, Bhayani SB, Kim EH, Benway BM, Gardner MW, Figenshau RS. Laparoscopic cryoablation of renal masses: single-center long-term experience. *Urology* 2012; 80: 307-314 [PMID: 22857748 DOI: 10.1016/j.urology.2012.03.044]
11 Ng KM, Chua TC, Saxena A, Zhao J, Chu F, Morris DL. Two decades of experience with hepatic cryotherapy for advanced colorectal metastases. *Ann Surg Oncol* 2012; 19: 1276-1283 [PMID: 21913018 DOI: 10.1245/s10434-011-2025-4]
12 Pathak S, Jones R, Tang JM, Parmar C, Fenwick S, Malik H, Poston G. Ablative therapies for colorectal liver metastases: a systematic review. *Colorectal Dis* 2011; 13: e252-e265 [PMID: 21689362 DOI: 10.1111/j.1463-1318.2011.02695.x]
13 Xu KC, Niu LZ, He WB, Hu YZ, Zuo JS. Percutaneous cryosurgery for the treatment of hepatic colorectal metastases. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 1430-1436 [PMID: 18322961 DOI: 10.3748/wjg.14.1430]
14 Niu R, Yan TD, Zhu JC, Black D, Chu F, Morris DL. Recurrence and survival outcomes after hepatic resection with or without cryotherapy for liver metastases from colorectal carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2007; 14: 2078-2087 [PMID: 17473951 DOI: 10.1245/s10434-007-9400-1]
15 杨茂, 郭志, 李保国. 肝细胞癌冷冻消融术后早期复发的危险因素. 世界华人消化杂志 2011; 19: 960-963
16 郭志, 邢文阁, 刘方, 于海鹏, 李保国, 郭秀英, 张晟, 付丽, 邢纪中, 张俊义, 王友聚, 龚彬. 氩氦冷冻在原发巨块型肝癌介入治疗中的临床应用. 中华放射学杂志 2005; 39: 198-203

编辑 田滢 电编 鲁亚静

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

世界华人消化杂志 2013年4月18日; 21(11): 1029-1034
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

肠易激综合征与精神心理因素的相关性

瞿 勇, 李敏丽, 缪应雷

瞿勇, 李敏丽, 缪应雷, 云南昆明医科大学第一附属医院消化内科 云南省昆明市 650032
瞿勇, 主要从事消化性溃疡、肠易激综合征发病机制的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81260074
作者贡献分布: 瞿勇与缪应雷进行方案设计; 瞿勇完成病例搜集、数据统计、分析及论文撰写; 瞿勇与李敏丽参与病例的搜集; 缪应雷完成学科间协调.
通讯作者: 缪应雷, 主任医师, 650032, 云南省昆明市西昌路295号, 昆明医科大学第一附属医院消化内科.
myldu@sina.com
收稿日期: 2013-02-02 修回日期: 2013-03-15
接受日期: 2013-03-29 在线出版日期: 2013-04-18

Correlation between psychological factors and irritable bowel syndrome

Yong Qu, Min-Li Li, Ying-Lei Miao

Yong Qu, Min-Li Li, Ying-Lei Miao, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan Province, China
Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 81260074
Correspondence to: Ying-Lei Miao, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, 295 Xichang Road, Kunming 650032, Yunnan Province, China. myldu@sina.com
Received: 2013-02-02 Revised: 2013-03-15
Accepted: 2013-03-29 Published online: 2013-04-18

Abstract

AIM: To investigate the incidence of anxiety and depression and factors associated with the occurrence of anxiety and depression in patients with irritable bowel syndrome (IBS) to provide a theoretical basis for the use of anti-anxiety/depression and psychological treatments in IBS patients with psychological abnormalities.

METHODS: Sixty patients with IBS treated from December 2010 to December 2011 in Department of Gastroenterology of the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University and 60 healthy controls were included in this study. The patients were assessed using the ZUNG self-rating anxiety scale, ZUNG self-rating depression scale, life event scale and social support rating scale. All scores were compared using statistical methods.

RESULTS: The incidences of anxiety and depression were significantly higher in IBS patients than in healthy controls ($P < 0.05$, $P < 0.01$). The self-rating anxiety scale and self-rating depression scale scores differed significantly between IBS patients and healthy controls (both $P < 0.01$). Although there was no significant difference in positive event scores and social support total scores between IBS patients and healthy controls (both $P > 0.05$), a statistical significance was noted in negative event score between the two groups ($P < 0.01$).

CONCLUSION: The incidences of anxiety and depression are significantly higher in IBS patients than in normal controls. Negative life events have an important mental impact on IBS patients. Life events and social support are closely related to psychological changes in IBS patients. IBS patients' psychological state should be monitored in clinical practice, and appropriate interventions should be given if anxiety and depression develop in these patients.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Irritable bowel syndrome; Anxiety; Depression; Psychological factors

Qu Y, Li ML, Miao YL. Correlation between psychological factors and irritable bowel syndrome. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(11): 1029-1034 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1029.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i11.1029

摘要

目的: 比较肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)的焦虑、抑郁发生率; 探讨此类患者出现焦虑、抑郁的相关影响因素, 为伴有精神心理异常的IBS患者进行抗焦虑抑郁及心理治疗提供理论依据.

方法: 收集2010-12/2011-12昆明医科大学第一附属医院消化内科门诊及住院已确诊IBS的患者60例, 正常对照60例. 采用一般情况调查表、ZUNG焦虑自评量表(self-rating anxiety scale, SAS)、ZUNG抑郁自评量表(self-rating

■**背景资料**
肠易激综合征(IBS)是一种以腹痛或腹部不适伴排便习惯改变为特征的功能性肠病, 该病缺乏可解释症状的形态学改变和生化异常.

■**同行评议者**
潘秀珍, 教授, 主任医师, 福建省立医院消化科

■研发前沿
IBS的发病因素尚不清楚，近年来一些研究提示该病与精神心理因素密切相关.

depression scale, SDS)、生活事件量表(life event scale, LES)及社会支持评定量表(social support rating scale, SSRS)分别对IBS患者及正常对照进行评定. 运用SPSS统计软件分析, $P<0.05$为有统计学意义, $P<0.01$为有显著统计学意义.

结果: (1)焦虑、抑郁发生率比较: 焦虑发生率IBS组>正常对照组, 两两比较P均<0.05; IBS组抑郁发生率与正常对照比较P均<0.01; (2)SAS、SDS评分结果显示: IBS患者与正常对照比较$P<0.01$; (3)LES、SSRS评分结果显示: 组间两两比较正性事件分及社会支持总分无统计学差异$P>0.05$, IBS组与正常对照比较负性事件分有显著统计学差异$P<0.01$; (4)焦虑、抑郁相关影响因素比较: 年龄、负性事件分有显著统计学意义$P<0.01$, IBS组发生焦虑的危险因素为负性事件, 抑郁相关影响因素比较, 负性事件是IBS组的危险因素, 年龄、负性事件是抑郁分的危险因素($P<0.01$).

结论: (1)IBS患者焦虑、抑郁发生率高于正常人; (2)负性生活事件对IBS患者精神心理有重要影响; (3)生活事件、社会支持度与IBS患者精神心理变化密切相关; (4)临床实践中应关注IBS患者的心理状态, 对有明显焦虑和抑郁的患者应给予相应的干预措施.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 肠易激综合征; 焦虑; 抑郁; 精神心理因素

核心提示: 肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)患者焦虑、抑郁发生率高于正常人, 负性生活事件对IBS患者精神心理有重要影响, 生活事件、社会支持度与IBS患者精神心理变化密切相关, 临床实践中应关注IBS患者的心理状态, 对有明显焦虑和抑郁的患者应给予相应的干预措施.

瞿勇, 李敏丽, 缪应雷. 肠易激综合征与精神心理因素的相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21(11): 1029-1034 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1029.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i11.1029

0 引言

近年来肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)患者均呈逐年增加趋势, 我国普通人群中有5%-6%的IBS患者[1], 研究发现, IBS患者与正常人相比均存在明显的焦虑、抑郁症状[2], IBS患者在精神心理上的异常共同表现为不同程度的焦虑、抑郁[3], IBS属肠道功能性改变, 病因和发病机制尚不明确, 目前认为肠道感染后和精神心理障碍是其发病的主要原因.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2010-12/2011-12昆明医科大学第一附属医院消化内科门诊及住院已确诊的IBS患者60例、正常对照60例进行研究; (1)IBS组: 根据罗马III诊断标准[4]收集同期确诊IBS患者60例; (2)正常对照组: 收集无消化系疾病、既往及现在无罹患精神疾病的健康体检者60例.

1.2 方法

1.2.1 诊断标准: IBS的诊断标准: 在最近的3 mo内每月至少有3 d具有反复发作的腹痛或腹部不适, 并有下列症状中的2个或以上: (1)排便后症状改善; (2)排便频率的改变; (3)粪便性状的改变. 在诊断前6 mo出现症状, 最近3 mo症状发作符合上述诊断标准.

1.2.2 病例排除标准: IBS组患者排除标准: (1)经临床检查大便常规腹部B超、钡剂和/或肠镜等吸收不良综合征、血吸虫感染、胃肠道肿瘤、IBD、肠道菌群失调、肝胆及内分泌疾病、无神经疾病和精神病史、无药物及酒精滥用史; (2)排除孕妇、年龄<16岁或者>80岁的患者.

1.2.3 偏倚控制: 对多数填表者均进行逐一解释填表项目最后对填表结果核对以控制偏倚.

1.2.4 研究工具: 一般情况调查表(表1): 包括以姓名、性别、年龄、文化程度、职业、病程. 4个自评量表[5](表2-5): ZUNG抑郁自评量表、ZUNG焦虑自评量表, 生活事件量表及社会支持评定量表; ZUNG焦虑/抑郁自评量表(self-rating anxiety scale, SAS/ self-rating depression scale, SDS)两个量表各包括20个项目, 评定采用1-4分制记分, 20个项目得分相加为粗分, 粗分乘以1.25, 四舍五入取整数即得到标准分. 抑郁评定的临界值为标准分50分, 分值越高, 焦虑或抑郁倾向越明显. 50-59分提示轻度焦虑或抑郁, 60-69分提示中度焦虑或抑郁, 69分以上提示重度焦虑或抑郁; 生活事件量表(life event scale, LES)量表含有48条我国较常见的生活事件, 包括3个方面的问题. 一是家庭有关问题(28条); 二是工作学习中的问题(13条); 三是社交与其他问题(7条), 另设两个空白项目, 供填写者填写经历过而表中未列出的事件. 一过性事件如流产、失窃要记录发生次数, 长期性事件如住房拥挤、夫妻分居等不到半年记为1次, 超过半年记为2次. 影响程度分为5级, 从毫无影响到影响极

表 1 两组基本情况比较 [n = 60, n(%)]

项目	肠易激综合征组	正常对照组
年龄		
mean ± SD	46.55 ± 13.83	41.37 ± 13.11
最小值, 最大值	26.00, 80.00	20.00, 69.00
性别		
男	27(45.00)	26(43.33)
女	33(55.00)	34(56.67)
文化程度		
小学及以下	18(30.00)	12(20.00)
初中	17(28.33)	12(20.00)
高中及中专	11(18.33)	16(26.67)
大专及以上	14(23.33)	20(33.33)

表 2 两组焦虑、抑郁发生率及SAS、SDS评分比较 [n = 60, n(%)]

项目	肠易激综合征组	正常对照组
焦虑		
是	22(36.67)[b]	2(3.33)
否	38(63.33)	58(96.67)
抑郁		
是	28(46.67)[d]	4(6.67)
否	32(53.33)	56(93.33)
焦虑评分		
mean ± SD	4 145.08 ± 11.41[f]	34.77 ± 8.02
最小值, 最大值	25.00, 65.00	25.00, 51.00
抑郁评分		
mean ± SD	45.67 ± 10.87[h]	47.03 ± 10.19
最小值, 最大值	26.00, 70.00	29.00, 76.00

[b]P<0.01, [d]P<0.01, [f]P<0.01, [h]P<0.01 *vs* 正常对照组.

重分别记为1、2、3、4分, 影响持续时间分3 mo内、半年内、一年内、一年以上4个等级, 分别记1、2、3、4分. LES总分越高反映个体承受的精神压力越大, 负性事件分值越高对心身健康影响越大; 社会支持评定量表(social support rating scale, SSRS) 该量表有10个条目, 包括客观支持(3条)、主观支持(4条)和对社会支持的利用度(3条)3个维度. 客观支持包括第2、6、7条, 主观支持包括第1、3、4、5条, 对支持的利用度包括第8、9、10条. 总得分和各分量表得分越高, 说明社会支持程度越好; 施测方法 分别让60例IBS患者及60例正常对照自填量表进行精神心理因素评分, 对有疑意的条目详细询问患者, 最后确定该条目的评分以增加准确性.

统计学处理 评分数据用mean±SD表示; 用

表 3 两组LES、SSRS评分比较 [n = 60, n(%)]

项目	肠易激综合征组	正常对照组
正性事件分		
mean ± SD	0.20 ± 0.82	0.92 ± 2.26
最小值, 最大值	0.00, 4.00	0.00, 9.00
负性事件分		
mean ± SD	27.18 ± 21.49[b]	5.47 ± 6.96
最小值, 最大值	0.00, 105.00	0.00, 30.00
社会支持总分		
mean ± SD	40.88 ± 8.30	42.92 ± 7.61
最小值, 最大值	12.00, 54.00	25.00, 59.00

采用Wilcoxon法进行统计分析; [b]P<0.01 *vs* 正常对照组.

SPSS统计分析软件进行统计学处理, 计数资料和分类变量采用方差分析、χ^2检验, 计量资料和连续变量采用方差分析比较, 危险因素的筛选采用单因素和线性回归分析; P<0.05为有统计学意义, P<0.01为有显著统计学意义.

2 结果

一般资料IBS患者60例, 男27例, 女33例, 年龄26-78岁, 平均年龄46.55岁±13.83岁, 平均病程2.30年±1.36年. 正常对照60例, 男26例, 女34例, 年龄20-69岁, 平均年龄41.37岁±13.11岁. 两组基本情况(表1)包括年龄、性别、文化程度. 年龄比较采用方差分析, 性别、文化程度比较采用χ^2检验. 经检验P>0.05无统计学意义.

IBS组患者焦虑、抑郁发生率情况(表2)采用χ^2检验: (1)焦虑、抑郁率比较: IBS组与对照组比较, P<0.01, 说明IBS组与正常对照比较, 焦虑、抑郁率有统计学意义; IBS组的焦虑、抑郁发生率明显高于正常对照; (2)SAS、SDS评分与正常对照比较P<0.01, 说明IBS组焦虑、抑郁评分明显高于正常对照组.

两组LES及SSRS评分情况(表3)正性事件与负性事件分之和为生活事件量表总分, IBS组与正常对照比较负性事件分有显著统计学意义, P<0.01.

正常对照组、IBS组焦虑发生的相关影响因素(表4)焦虑相关影响因素采用Logistic回归分析, 经统计学检验年龄、负性事件分有显著统计学意义, P<0.01, 说明年龄、负性事件分是焦虑的危险因素; 年龄越大, 负性事件分越高者发生焦虑的可能就越高; 社会支持总分为保护因素, 社会支持总分越高焦虑的发生就越小.

■相关报道

近年来IBS患者均呈逐年增加趋势, 我国普通人群中有5%-6%的IBS患者, 且经常被误诊为肠功能紊乱、慢性结肠炎等, 由于本病同时存在众多的精神症状, 近来认识到是一种复杂的生物心理社会性的疾病.

■创新盘点
本研究立题有依据，通过病例收集，科学地利用统计学方法对调查量表进行分析，结果简洁易懂，清晰明确，重点突出，为IBS发病的精神心理因素提供理论依据，有利于IBS的防治.

表 4 正常对照组、IBS组有无焦虑相关因素的探索性分析 (单因素Logistic分析)

指标	回归系数	标准误	χ^2值	*P*值	*OR*	*OR*_low	*OR*_up
性别	−0.1456	0.1915	0.5779	0.4471	0.747	0.353	1.583
年龄	0.0488	0.0149	10.8147	0.0010	1.050	1.020	1.081
病程	0.0253	0.0387	0.4284	0.5128	1.026	0.951	1.106
正性事件分	−0.4730	0.3170	2.2268	0.1356	0.623	0.335	1.160
负性事件分	0.0554	0.0112	24.4726	<0.0001	1.057	1.034	1.080
社会支持总分	−0.0437	0.0238	3.3619	0.0667	0.957	0.914	1.003

以有无焦虑为因变量，分别以年龄、性别、病程、正性事件值、负性事件值、社会支持总分为自变量，建立Logistic回归.

表 5 正常对照组、IBS组有无抑郁相关因素的探索性分析 (单因素Logistic分析)

指标	回归系数	标准误	χ^2值	*P*值	*OR*	*OR*_low	*OR*_up
性别	−0.1038	0.1613	0.4142	0.5198	0.813	0.432	1.529
年龄	0.0293	0.0124	5.5411	0.0186	1.030	1.005	1.055
病程	0.0823	0.0332	6.1498	0.0131	1.086	1.017	1.159
正性事件分	−0.1875	0.1264	2.2001	0.1380	0.829	0.647	1.062
负性事件分	0.0854	0.0139	37.4426	<0.0001	1.089	1.060	1.119
社会支持总分	−0.0536	0.0211	6.4659	0.0110	0.948	0.909	0.988

以有无抑郁为因变量，以年龄、性别、病程、正性事件值、负性事件值、社会支持总分为自变量，建立Logistic回归.

正常对照组、IBS组抑郁发生的相关影响因素(表5)抑郁相关影响因素采用Logistic回归分析，经检验负性事件分是IBS组的危险因素，负性事件分越高，抑郁的发生就越高；抑郁评分相关影响因素采用线性回归分析，经检验年龄、负性事件分是危险因素(P<0.01)；社会支持总分是抑郁分的保护因素，社会支持总分越高者抑郁分就越低.

3 讨论

应激、焦虑、抑郁是导致胃肠道慢性炎性病变的一个病因学因素，消化系统疾病与机体长期的不良情绪有着密切关联，属心身疾病的IBS患者均具有精神心理异常，主要表现为焦虑、抑郁，同时也可出现敌对情绪、疑病症状、个性敏感、孤独、生活负性应激事件发生频率高、社会支持度低、心理压力大等，在发病前常存在应激事件的刺激，刺激作为应激源通过影响下丘脑-垂体-肾上腺轴(hypothalamus-pituitary-adrenal axis, HPAA)、下丘脑-自主神经系统轴(hypothalamus-autonomic nervous system axis, HANSA)和肠道神经系统(enteric nervous system, ENS)并释放炎性细胞因子，有研究显示异常情绪的产生可能与中枢神经递质如去甲肾上腺素(norepinephrine, NE)、5-羟色胺(5-hydroxy tryptamine, 5-HT)等紊乱有关[6]. 这些说明IBS患者在共患精神心理异常上存在相同点，可能与心理压力大、焦虑、抑郁、负性生活事件发生率高、社会支持度低等因素有关. 近年来研究表明IBS患者结肠黏膜存在炎性改变，显微镜下可见炎性细胞增加[7,8]，目前认为，有学者认为IBS是与肥大细胞相关的肠道炎症性疾病[9]，他使肠道黏膜受损、引起肠道功能障碍，导致疾病复发、治疗困难.

3.1 焦虑、抑郁的相关影响因素 本次研究把IBS患者60例作为研究对象探讨焦虑、抑郁的相关影响因素. Logistic回归、线性回归分析发现年龄、负性事件分为焦虑及焦虑评分的危险因素，年龄越大、负性事件分越高者焦虑评分就越高，发生焦虑的可能就越大，而社会支持总分和正性事件分回归系数未发现是影响因素；性别、病程未发现对焦虑有相关性，负性事件是IBS组焦虑相关影响因素，说明负性事件发生越多的患者可能精神心理异常越明显.

单因素Logistic回归发现年龄、病程、负性事件分、社会支持总分是抑郁的相关影响因素, 其中年龄、负性事件分是危险因素, 年龄越大、负性事件分越高者发生抑郁的可能越大; 社会支持总分是保护因素, 社会支持总分越高发生抑郁的可能越小. 抑郁评分经单因素线性回归分析发现年龄、病程、负性事件分、社会支持总分是其影响因素, 患者病程越长负性事件分越高者抑郁评分越高, 社会支持总分越高者抑郁评分越低. 总之, 结果表明负性事件对IBS患者的焦虑、抑郁有重要影响, 是危险因素; 社会支持度有着积极的正面作用是IBS患者共同的保护因素.

3.2 焦虑、抑郁对IBS患者的影响 长期焦虑和/或抑郁可使患者血清$CD8^+$ T细胞、NK细胞减少、T细胞功能异常, 使机体免疫功能发生异常改变, 从而对IBS患者产生负面影响. 此外, 焦虑、抑郁作为应激源可激活肥大细胞, 使肥大细胞脱颗粒释放细胞因子, 如白介素-1(interleukin-1, IL-1)、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-13、干扰素-γ(interferon-γ, IFN-γ)、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)等, 出现促炎细胞因子和抗炎细胞因子失衡, 免疫调节性细胞因子功能异常, 最终使肠道上皮通透性增加, 细菌抗原及毒物渗入肠道黏膜下层进一步加重肠道炎症; Liebregts等[10]发现IBS患者可能存在自身免疫的激活, 焦虑症状使TNF-α、IL-1β、IL-6释放增加, 胃肠道症状和慢性疼痛是焦虑、抑郁患者共同的消化系症状. 焦虑和/或抑郁可加重IBS患者躯体疾病的痛苦, 使腹痛加剧, 常导致患者的疗效不佳、治疗困难.

本研究采用国际心理研究中心具有权威性的SAS、SDS自评量表让各组人员自行填表, 用标准分比较各组的焦虑、抑郁状态. IBS组中有焦虑状态22例(36.67%), 抑郁状态28例(46.67%). 首先经统计学分析, 研究对象在性别、年龄、文化程度上无统计学意义(P>0.05). 研究结果表明: IBS组患者焦虑、抑郁率明显高于正常对照, IBS患者有较高的焦虑、抑郁发生率, 这与国外学者的研究结果一致[11-13]. IBS组SAS、SDS评分与正常对照比较P<0.01, 说明IBS组焦虑、抑郁评分明显高于正常对照. 总之, 焦虑、抑郁对IBS患者有重要影响, 焦虑、抑郁越重的患者生活质量越低.

3.3 生活事件对IBD、IBS患者的影响 应激事件能引起焦虑、抑郁并产生应激性肠道损伤, 导致肠道病理生理发生改变, 通过跨细胞和旁细胞途径使肠道分泌功能异常并使肠道上皮通透性增加, 长期暴露于应激下可引起肠道黏膜超微结构改变产生低度炎症, 改变肠道屏障功能使细菌移位, 最终可加重IBS患者的临床症状, 出现腹泻、腹痛等相关表现.

本次研究应用LES评分结果表明: 采用Logistic回归分析发现负性事件是引起IBS组患者产生焦虑、抑郁状态的危险因素, 这与以往文献的研究报道一致. 负性生活事件长期作用可使IBS患者精神心理发生改变, 使IL-1β、IL-6、TNF-α增加[14], 加重IBS病情; 同时, 长期负性生活事件可导致慢性心理应激激活肥大细胞并使全身免疫系统激活[7], 还可通过肾上腺皮质激素介导的免疫机制可产生应激性结肠炎症, 同时启动肠道共生菌易位使结肠炎症继续加重[15]. 总之, LES评分结果分析发现负性事件对IBS患者有重要影响. 采用线性回归分析发现负性事件分是SAS、SDS评分的重要影响因素, 在单因素线性回归分析中病程对SDS评分有影响. 本次研究未发现正性事件是焦虑、抑郁的相关影响因素(P>0.05), 正性事件对IBS患者的影响尚无明确依据.

3.4 社会支持度对IBS患者的影响 本研究发现, 社会支持总分是IBS患者焦虑、抑郁的保护性因素, 回归系数为负值, 说明社会支持对IBS患者有积极的正面意义. 社会支持具体指来自社会各方面的包括家庭、亲戚、朋友、同事、邻居、党团、工会等给予的精神和物质上的帮助支持, 社会支持有利于心身健康是构成良好的生活质量的重要因素, 社会支持能减轻患者的腹痛症状与IBS患者病情的严重程度呈负相关[16], 社会支持一方面对处于应激状态下的个体提供保护, 另一方面对维持一般的良好情绪体验具有重要意义, 社会支持度越高患者越能主动采取积极的方式解决生活的负性事件, 因而具有的较强自我保护意识, 能积极消除精神心理因素对病情的影响, 提高患者生活质量. 较好的社会支持可以有效减少焦虑、抑郁症的发生率, 让患者情绪保持积极乐观, 使机体自主神经调节功能维持平衡, 因此社会支持对IBS患者具有积极的正面意义.

随着IBS在精神心理上的相关研究深入及医疗技术的进步, 必将更加清楚的认识IBS和有

■应用要点

本文探讨负性生活事件对IBS患者精神心理有重要影响, 生活事件、社会支持度与IBS患者精神心理变化密切相关, 强调了临床实践中应关注IBS患者的心理状态, 对有明显焦虑和抑郁的患者应给予相应的干预措施, 为IBS患者的临床治疗方案提供了理论指导.

■同行评价
本文立题有依据, 病例收集与调查量表规范, 结果可信, 结论明确, 讨论简洁, 重点突出, 研究结果对IBS发病的精神心理因素提供理论依据, 对IBS的防治具有一定指导意义.

更好的治疗方法; 对有明显精神心理异常的IBS患者, 除了消化系症状以外,如出现焦抑郁为主要的精神症状, 治疗上应重以精神心理疏导, 辅以适当药物治疗, 积极适时地给予一定的抗焦虑(抑郁)、减压、调节心理等治疗, 临床疗效的需待进一步临床研究.

4 参考文献

1 Liu J, Hou X. A review of the irritable bowel syndrome investigation on epidemiology, pathogenesis and pathophysiology in China. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26 Suppl 3: 88-93 [PMID: 21443718 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06641.x]
2 Kovács Z, Kovács F. Depressive and anxiety symptoms, dysfunctional attitudes and social aspects in irritable bowel syndrome and inflammatory bowel disease. *Int J Psychiatry Med* 2007; 37: 245-255 [PMID: 18314852 DOI: 10.2190/PM.37.3.a]
3 Cho HS, Park JM, Lim CH, et al. Anxiety, depression and quality of life in patients with irritable bowel syndrome. *Gut Liver* 2011; 5: 29-36 [PMID: 21461069 DOI: 10.5009/gnl.2011.5.1.29]
4 罗马委员会. 功能性胃肠病罗马Ⅲ诊断标准. 胃肠病学 2006; 11: 761-765
5 戴晓阳. 常用心理评估量表手册. 第1版. 北京: 人民军医出版社, 2010: 90-135
6 田志颖, 冯丽英, 王丽华. 5-羟色胺与焦虑、抑郁的关系及其在溃疡性结肠炎发病中的作用. 胃肠病学和肝病学杂志 2011; 20: 827-828
7 Spiller RC. Overlap between irritable bowel syndrome and inflammatory bowel disease. *Dig Dis* 2009; 27 Suppl 1: 48-54 [PMID: 20203497 DOI: 10.1159/000268121]
8 Mearin F, Perelló A, Balboa A. [Irritable bowel syndrome and inflammatory bowel disease: Is there a connection?]. *Gastroenterol Hepatol* 2009; 32: 364-372 [PMID: 19442413 DOI: 10.1016/j.gastrohep.2008.12.007]
9 Philpott H, Gibson P, Thien F. Irritable bowel syndrome-An inflammatory disease involving mast cells. *Asia Pac Allergy* 2011; 1: 36-42 [PMID: 22053295 DOI: 10.5415/apallergy.2011.1.1.36]
10 Liebregts T, Adam B, Bredack C, Röth A, Heinzel S, Lester S, Downie-Doyle S, Smith E, Drew P, Talley NJ, Holtmann G. Immune activation in patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2007; 132: 913-920 [PMID: 17383420]
11 Camacho Martel L. [Psychological support and treatment in inflammatory bowel disease: the physician-patient relationship]. *Gastroenterol Hepatol* 2009; 32 Suppl 2: 13-18 [PMID: 19900623 DOI: 10.1016/S0210-5705]
12 Thijssen AY, Jonkers DM, Leue C, van der Veek PP, Vidakovic-Vukic M, van Rood YR, Clemens CH, Masclee AA. Dysfunctional cognitions, anxiety and depression in irritable bowel syndrome. *J Clin Gastroenterol* 2010; 44: e236-e241 [PMID: 20733511 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3181eed5d8]
13 Shen L, Kong H, Hou X. Prevalence of irritable bowel syndrome and its relationship with psychological stress status in Chinese university students. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 1885-1890 [PMID: 19780881 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2009.05943.x]
14 Wohleb ES, Hanke ML, Corona AW, Powell ND, Stiner LM, Bailey MT, Nelson RJ, Godbout JP, Sheridan JF. β-Adrenergic receptor antagonism prevents anxiety-like behavior and microglial reactivity induced by repeated social defeat. *J Neurosci* 2011; 31: 6277-6288 [PMID: 21525267 DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0450-11.2011]
15 Reber SO, Peters S, Slattery DA, Hofmann C, Schölmerich J, Neumann ID, Obermeier F. Mucosal immunosuppression and epithelial barrier defects are key events in murine psychosocial stress-induced colitis. *Brain Behav Immun* 2011; 25: 1153-1161 [PMID: 21397685 DOI: 10.1016/j.bbi.2011.03.004]
16 Lackner JM, Brasel AM, Quigley BM, Keefer L, Krasner SS, Powell C, Katz LA, Sitrin MD. The ties that bind: perceived social support, stress, and IBS in severely affected patients. *Neurogastroenterol Motil* 2010; 22: 893-900 [PMID: 20465594 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2010.01516.x]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2013年4月18日; 21(11): 1035-1039
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

嗜酸性粒细胞性胃肠炎的诊治分析67例

江 勇, 卢向东, 张 颖, 季英兰, 张志广

江勇, 卢向东, 张颖, 季英兰, 张志广, 天津医科大学第二医院消化内科 天津市 300121
江勇, 主要从事胃肠道疾病的研究.
作者贡献分布: 本研究由江勇设计; 研究过程由张志广指导, 江勇完成; 结果判读由卢向东、张颖、季英兰及张志广完成; 数据分析及论文撰写由江勇与张颖共同完成.
通讯作者: 张志广, 主任医师, 300121, 天津市河西区平江道23号, 天津医科大学第二医院消化内科. zhiguang_zh@sina.com
电话: 022-88328825
收稿日期: 2013-02-04 修回日期: 2013-03-04
接受日期: 2013-03-14 在线出版日期: 2013-04-18

Diagnosis and treatment of eosinophilic gastroenteritis: An analysis of 67 cases

Yong Jiang, Xiang-Dong Lu, Ying Zhang, Ying-Lan Ji, Zhi-Guang Zhang

Yong Jiang, Xiang-Dong Lu, Ying Zhang, Ying-Lan Ji, Zhi-Guang Zhang, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300121, China
Correspondence to: Zhi-Guang Zhang, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Tianjin Medical University, 23 Pingjiang Road, Hexi District, Tianjin 300121, China. zhiguang_zh@sina.com
Received: 2013-02-04 Revised: 2013-03-04
Accepted: 2013-03-14 Published online: 2013-04-18

Abstract

AIM: To investigate the clinical characteristics, diagnosis, and therapy of eosinophilic gastroenteritis (EG) to improve the awareness of this disease.

METHODS: Clinical data for 67 patents with EG treated in our department were retrospectively analyzed, including history, clinical manifestations, laboratory examinations, endoscopic findings, treatment, and reasons for misdiagnosis.

RESULTS: Most EG patients had nonspecific gastrointestinal symptoms. The number of eosinophils in peripheral blood and bone marrow increased significantly. Endoscopic features of EG did not show specificity. Infiltration by a large number of eosinophils could be detected by biopsies. Glucocorticoid treatment was effective. Forty-six (46/67, 68.7%) patients were not initially diagnosed with EG, and the causes of misdiagnosis were diverse.

CONCLUSION: Clinical and endoscopic presentations of EG are complex and diverse, but not specific, which may lead to misdiagnosis. The presence of eosinophilia in peripheral blood and ascites, especially the increase in the number of eosinophils in the gastrointestinal mucosa, supports the diagnosis. Glucocorticoid treatment can lead to perfect results.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Eosinophilic gastroenteritis; Diagnosis; Therapy; Misdiagnosis

Jiang Y, Lu XD, Zhang Y, Ji YL, Zhang ZG. Diagnosis and treatment of eosinophilic gastroenteritis: An analysis of 67 cases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(11): 1035-1039
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1035.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i11.1035

摘要

目的: 分析嗜酸性粒细胞性胃肠炎(eosinophilic gastroenteritis, EG)的临床特点、诊治经过及误诊的原因, 以提高对EG的认识.

方法: 回顾性分析67例EG患者的临床资料, 对病史、临床表现、实验室检查、内镜表现和诊治经过及误诊的原因进行汇总分析.

结果: 67例EG患者多表现为非特异性胃肠道症状; 外周血和骨髓中嗜酸性粒细胞计数明显增高; EG的内镜下表现无特异性, 活检可见大量嗜酸性粒细胞浸润, 糖皮质激素治疗效果显著; 46例患者(68.7%)初步诊断未考虑EG, 误诊的原因是多方面的.

结论: EG的临床症状和内镜表现复杂多样, 缺乏特异性, 极易误诊; 外周血嗜酸性粒细胞、腹水嗜酸性粒细胞增多, 尤其是胃肠黏膜组织中嗜酸性粒细胞增多是诊断的关键; 糖皮质激素治疗效果显著.

© 2013年版权归Baishideng所有.

■背景资料
嗜酸性粒细胞性胃肠炎是一种以胃肠道某些部位局限性或弥漫性嗜酸性粒细胞浸润为特征的疾病, 病变可累及食管至直肠的全消化系壁各层, 其发病机制尚不完全明确, 且临床症状缺乏特异性, 易误诊、漏诊.

■同行评议者
黄缘, 教授, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室; 陈国忠, 主任医师, 广西中医学院第一附属医院消化内科

■研发前沿
本文着重分析嗜酸性粒细胞性胃肠炎的临床特点、诊治经过及误诊的原因, 以提高对该病的认识.

关键词: 嗜酸粒细胞性胃肠炎; 诊断; 治疗; 误诊

核心提示: 嗜酸性粒细胞性胃肠炎的临床症状和内镜表现复杂多样, 缺乏特异性, 极易误诊; 外周血嗜酸性粒细胞、腹水嗜酸性粒细胞增多, 尤其是胃肠黏膜组织中嗜酸性粒细胞增多是诊断该病的关键; 糖皮质激素的治疗效果显著.

江勇, 卢向东, 张颖, 季英兰, 张志广. 嗜酸性粒细胞性胃肠炎的诊治分析67例. 世界华人消化杂志 2013; 21(11): 1035-1039
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1035.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i11.1035

0 引言

嗜酸性粒细胞性胃肠炎(eosinophilic gastroenteritis, EG)是一种以胃肠道某些部位局限性或弥漫性嗜酸性粒细胞(eosinophils, EOS)浸润为特征的疾病, 病变可累及食管至直肠的全消化系壁各层, 其发病机制尚不完全明确, 且临床症状缺乏特异性, 易误诊、漏诊, 且该病亦非少见疾病[1], 为提高认识、更好地诊治该病, 现将我科1998-01/2012-10内诊断明确、资料较完整的67例病例综合分析如下.

1 材料和方法

1.1 材料 67例EG患者中, 男39例, 女28例, 年龄27-69岁, 平均41.0岁±8.7岁. 病程5 d-20余年. 其中, 有明确食物过敏史12例, 主要为海鲜. 有磺胺类药物过敏史2例、青霉素类药物过敏史5例. 有哮喘病史3例. 过敏性鼻炎7例.

1.2 方法

1.2.1 诊断标准: (1)患者有腹痛、腹泻、恶心、呕吐等消化系症状; (2)从食管到直肠整个胃肠道有一个及以上部位组织活检或腹水细胞学检查有嗜酸性粒细胞浸润; (3)除外继发性疾病所致的胃肠道嗜酸性粒细胞浸润, 如寄生虫感染、结缔组织病、变态反应性肠病、嗜酸性粒细胞增多症等[2].

1.2.2 疾病分型: (1)黏膜病变型: 黏膜内大量嗜酸性粒细胞浸润, 以恶心、呕吐、腹痛、腹胀等消化系症状为主要表现; (2)肌层病变型: 浸润以肌层为主, 以幽门梗阻或小肠梗阻为主要表现; (3)浆膜病变型: 主要累及浆膜, 多表现为腹水. EG患者上述3型可单独或同时出现[3].

1.2.3 研究内容: 回顾性分析67例患者的临床表现以及实验室检查, 包括血常规、外周血嗜酸性粒细胞计数、腹水常规、大便常规、虫卵检查、肝肾功能检查、骨髓检查、内镜检查等.

■相关报道
以往的文章着重分析了嗜酸性粒细胞性胃肠炎的临床特点、内镜下的特点及诊治经过, 而对于其误诊的原因少有论述.

2 结果

2.1 症状 所有患者均以腹部不适为首发表现, 不适症状往往缺乏特异性. 59例(88.1%)患者有腹痛, 疼痛部位多在上腹部及脐周, 以隐痛、绞痛为主; 腹胀27例(40.3%), 程度一般较轻, 其中有1例患者腹胀20余年; 腹泻19例(28.4%), 大便次数3-5次/d, 稀糊状; 黑便7例(10.4%); 顽固性恶心、呕吐1例.

2.2 辅助检查 血常规: 白细胞: (4.8-27.9)×10^9/L, 平均值为(11.6±5.7)×10^9/L; 61例(91.0%)患者嗜酸性粒细胞升高; 嗜酸性粒细胞计数绝对值: (0.02-7.46)×10^9/L, 平均值为(1.1±0.3)×10^9/L; 52例患者(77.6%)第一次抽血即发现外周血中嗜酸性粒细胞增多, 但部分患者需反复多次外周血化验才发现外周血中增多, 本研究中首次发现外周血嗜酸性粒细胞增多的抽血次数为1-4次不等, 平均化验1.2次; 大便隐血阳性7例; 便寄生虫检查均阴性; 肝肾功能均正常; 9例患者行骨髓穿刺检查, 均诊断为嗜酸细胞增多; 腹水检查: 腹水患者1例, 腹水为淡黄色, 李凡他试验(+), 蛋白32 g/L, 有核细胞计数为1.5×10^9/L, 可见大量嗜酸性粒细胞; 1例患者因反复幽门梗阻, 经外科手术病理证实嗜酸性粒细胞增多.

2.3 内镜及病理检查 所有患者均行胃镜和病理检查, 累及胃41例(图1A), 主要表现为胃窦黏膜出血、充血、水肿、糜烂、增厚, 累及十二指肠球部(图1B)和降段16例, 表现同上述, 活检病理可见受累黏膜有局灶或弥漫性嗜酸性粒细胞浸润, 1例患者仅表现为十二指肠降段入口环形狭窄伴梗阻(图1C), 黏膜光滑, 活检检查未见异常; 结肠镜检查31例, 进行活检患者23例, 表现为末端回肠及升结肠、乙状结肠散在红斑、充血水肿、糜烂、点状出血滑(图1D); 黏膜活检可见慢性炎症伴黏膜或黏膜下层较多嗜酸性粒细胞浸润(图2); 所有活检均在病灶及其周围嵌取, 嵌取数量3-7处, 平均5.3处.

2.4 分型 有黏膜型65例, 肌层病变型1例, 浆膜型1例.

2.5 治疗及随访 67例患者入院后前3 d仅21例患者考虑为EG. 所有患者均注意饮食, 给予抑酸、保护胃黏膜药物治疗. 8例患者确诊后接受糖皮质激素治疗(强的松30-40 mg/d), 总疗程约10 wk. 3-5 d后腹痛、腹胀症状明显减轻, 消化系症状1-2 wk后消失; 腹水患者治疗10 d后, 腹水逐步

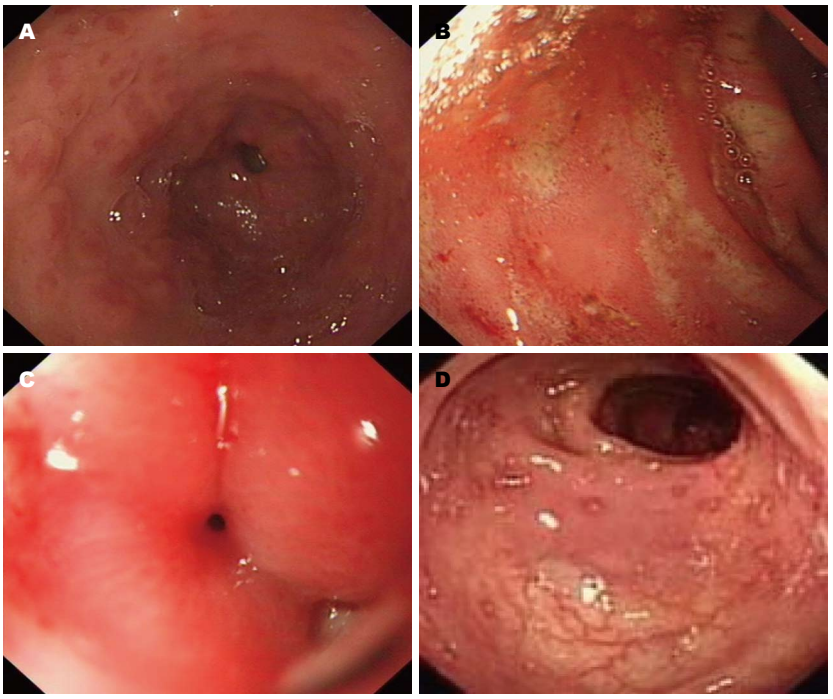


图 1 内镜检查结果. A: 胃窦部广泛的增生、充血糜烂; B: 十二指肠球部溃疡部多发、片状溃疡; C: 十二指肠降段入口环形狭窄, 黏膜光滑; D: 乙状结肠散在浅溃疡, 周围充血、水肿.

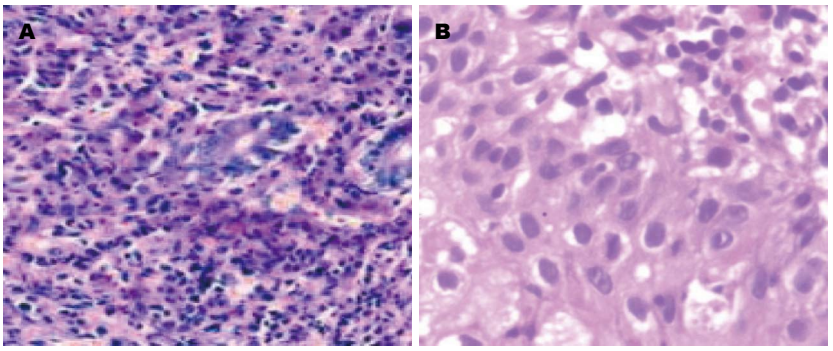


图 2 EG患者胃黏膜活检的组织病理切片(HE染色). A: HE, ×100; B: HE, ×400.

■创新盘点

本文不仅详细地分析了嗜酸性粒细胞性胃肠炎的临床特点、内镜下的特点及诊治经过, 而且对其误诊的原因也进行了详细论述.

消失; 9例患者给予抑酸、对症支持治疗症状稍有好转, 拒绝行糖皮质激素治疗; 1例患者因累及肌层, 幽门梗阻不能缓解, 外科手术后证实为嗜酸性胃肠炎. 随访2 mo-15年, 47例患者激素治疗后的患者效果显著, 未再复发, 11例患者于15 mo内复发, 再次给予强的松40 mg/d治疗后好转. 此外, 9例未经激素治疗患者均于6 mo-2年内复发, 给予激素治疗后好转.

3 讨论

嗜酸性粒细胞在胃肠道浸润的原因未明, 但黏膜层中的嗜酸性粒细胞凋亡可以通过活性氧的形成嗜酸性粒细胞衍生神经毒素、卤素酸等物质激活而引起严重的免疫反应[3]. 另有报道提示EG的发生可能与主要基础蛋白沉积、肥大细胞脱颗粒有关[4].

EG临床症状缺乏特异性[5]. 本组资料显示, EG患者大多数以腹痛为首发症状, 疼痛性质无特异性, 可为钝痛、绞痛、隐痛; 同时可有腹泻、腹胀、恶心、呕吐、黑便、低热、体质量减轻等症状. 黏膜型病变最常见, 本组65例黏膜型患者表现为腹痛、腹泻、恶心、呕吐、消化系出血; 肌层病变型较为少见, 可因胃肠壁增厚导致肠梗阻, 本组中即发现1例患者反复出现高位肠梗阻, 最后手术确诊为EG; 浆膜层受累可引起腹水及腹膜炎相关症状, 主要表现为腹胀, 可伴有腹痛、发热, 本组中有1例浆膜型EG患者即以大量腹水为主要表现.

外周血和骨髓中嗜酸性粒细胞增多是诊断EG的重要线索. 有报道显示, EG患者可有80%外周血嗜酸性粒细胞增高[6]. 本组有61例(91.0%)患者嗜酸性粒细胞升高, 仅6例患者不高, 其中1例腹水患者血常规显示白细胞27.9×10^9/L, NEU 91.2%, EOS 0.1%(机器计数), 后多次查血常规及嗜酸性粒细胞升高计数均与此结果相近(均为机器计数), 结果行腹水常规及骨穿提示有大量嗜

■名词解释
嗜酸性粒细胞性胃肠炎: 一种以胃肠道某些部位局限性或弥漫性嗜酸性粒细胞浸润为特征的疾病, 病变可累及食管至直肠的全消化系壁各层, 其发病机制尚不完全明确.

酸性粒细胞, 重新人工计数外周血中的嗜酸性粒细胞, 发现外周血中的嗜酸性粒细胞也明显增高. 骨髓细胞学检查对诊断十分重要, 有助于排除其他疾病, 本组腹水患者, 因白细胞高, 而外周嗜酸性粒细胞不高(机器计数), 如前所述, 即行骨穿检查发现嗜酸性粒细胞增多, 最终确诊为EG. EG患者腹水多为渗出液, 腹水中嗜酸性粒细胞增高对EG的诊断有重要意义[7]. 本组资料中的患者即在腹水中找到了嗜酸性粒细胞, 为该患者的诊断和分型提供了重要线索.

内镜及活检是诊断EG必要的辅助检查手段, 镜下常为红斑、局部糜烂、溃疡等非特异性表现. 活检的主要特征为组织中有大量嗜酸性粒细胞浸润, 可浸润到黏膜、黏膜下, 甚至肌层, 并向浆膜层延伸. 目前EG尚无明确的组织学诊断标准, 有学者认为嗜酸性粒细胞计数上消化道黏膜>20个/HP和下消化道>60个/HP可以诊断EG[8]. 但胃肠道嗜酸性粒细胞浸润常呈局灶性分布, 内镜下黏膜活检可能为阴性表现, 因此内镜下多点活检可有效提高诊断率, 本研究中即采用多灶活检法提高阳性率. Talley等[2]报道内镜结合活检检查至少可以诊断80%的EG患者, 故内镜检查+黏膜活检对黏膜型和混合型的诊断意义较大. 本组67例患者中除1例累及肌层、1例累及浆膜层无法活检外, 其余65例患者均通过黏膜活检发现嗜酸性粒细胞浸润, 进而确诊为EG.

EG患者的治疗分为内科治疗和外科治疗. 对于可疑的过敏食物或药物应立即停止使用, 部分患者经饮食对症治疗后症状可缓解. 糖皮质激素对本病有良好效果, 口服强的松剂量为20-40 mg/d, 治疗8 wk后逐渐减量可以起到疗效好且并发症少的效果[9]. 本组中48例患者应用激素3-5 d后腹痛、腹胀症状明显减轻, 消化系症状1-2 wk后消失; 1例腹水患者治疗10 d后, 腹水逐步消失. 总疗程约10-12 wk. 另外, 对复发患者再次口服糖皮质激素治疗亦有效[9], 本组患者中有11例停用激素后复发, 再次应用激素效果仍然良好. EG合并出血患者应用激素可快速缓解症状并止血, 本研究中7例黑便患者激素治疗后预后良好, 而一般溃疡出血者, 激素治疗则为禁忌[10]. 对糖皮质激素治疗无效或有较为严重的不良反应者可改用色甘酸二钠作为替代药物, 200 mg, 4次/d[11]. 症状较重时应用米乐松40-80 mg/d静脉点滴, 临床症状可迅速缓解. 病变局限, 以肌层浸润为主者, 常有幽门梗阻或小肠梗阻, 可行手术治疗, 本组中1例患者即给予肠段切除术, 预后良好.

该病在临床上极易误诊, 本研究中高达46例患者(68.7%)未考虑EG, 分析主要的误诊原因[12-15]如下: (1)病史的了解不够深入, 尤其是过敏史, 本研究中即发现29例EG患者(43.3%)有过敏病史. 因此, 对有过敏病史的中青年患者需考虑此病; (2)对外周血嗜酸性粒细胞增高不够重视, 本研究中有11例患者嗜酸性粒细胞明显增高而视而不见, 引起误诊, 同时, 不能因外周血中嗜酸性粒细胞不高而否认该病, 有些患者嗜酸性粒细胞自始至终不高, 也有些患者需反复查外周血才能发现其增高, 如本研究中人均1.2次抽血才发现其增高; (3)临床症状不典型, 如本组中发现1例EG患者, 腹胀长达20余年而始终未能确诊, 究其原因就是临床症状缺乏特异性, 因此临床工作中, 如出现长期顽固性的腹部非特异性不适的症状, 常规抑酸、解痉药物疗效不明显时, 需警惕此病的可能; (4)活检不充分, 未进行多点、多部位活检, 同时, 病理科医生未重视嗜酸性粒细胞浸润, 本研究中有28例患者(41.8%), 入院当天即行内镜检查, 病理申请单未提示除外EG可能, 第一次病理报告均未提示EG, 在外周血出来后, 再次找病理科医师阅读病理片方诊断为EG; (5)只是看到计算机计数的嗜酸性粒细胞正常即浅尝辄止, 而未行手工计数, 如本组中即有1例患者出现此种情况. 因此, 如出现不能解释的外周血白细胞明显增多, 且有非特异性的腹部不适症状时, 需考虑此病之可能; (6)不重视骨髓穿刺辅助诊断, 如本研究中9例患者进行骨穿结果均提示嗜酸性粒细胞浸润, 说明此检查对该病的诊断有较强的特异性, 因此高度怀疑为EG而难以确诊时, 建议行骨髓穿刺检查.

4 参考文献

1 Zhang L, Duan L, Ding S, Lu J, Jin Z, Cui R, McNutt M, Wang A. Eosinophilic gastroenteritis: clinical manifestations and morphological characteristics, a retrospective study of 42 patients. *Scand J Gastroenterol* 2011; 46: 1074-1080 [PMID: 21623674 DOI: 10.3109/00365521.2011.579998]

2 Talley NJ, Shorter RG, Phillips SF, Zinsmeister AR. Eosinophilic gastroenteritis: a clinicopathological study of patients with disease of the mucosa, muscle layer, and subserosal tissues. *Gut* 1990; 31: 54-58 [PMID: 2318432 DOI: 10.1136/gut.31.1.54]

3 Hepburn IS, Sridhar S, Schade RR. Eosinophilic ascites, an unusual presentation of eosinophilic gastroenteritis: A case report and review. *World J*

Gastrointest Pathophysiol 2010; 1: 166-170 [PMID: 21607158 DOI: 10.4291/wjgp.v1.i5.166]
4 N Salkić N, Mustedanagić-Mujanović J, Jovanović P, Alibegović E. Enhanced therapeutic response with addition of loratadine in subserosal eosinophilic gastroenteritis. *Med Glas* (Zenica) 2013; 10: 178-182 [PMID: 23348189]
5 Elitsur Y. Confounding factors affect the pathophysiology of eosinophilic esophagitis. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 4466-4469 [PMID: 22969216 DOI: 10.3748/wjg.v18.i33.4466]
6 Alfadda AA, Storr MA, Shaffer EA. Eosinophilic colitis: epidemiology, clinical features, and current management. *Therap Adv Gastroenterol* 2011; 4: 301-309 [PMID: 21922029 DOI: 10.1177/1756283X10392443]
7 Franciosi JP, Tam V, Liacouras CA, Spergel JM. A case-control study of sociodemographic and geographic characteristics of 335 children with eosinophilic esophagitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7: 415-419 [PMID: 19118642 DOI: 10.1016/j.cgh.2008.10.006]
8 Chehade M, Aceves SS. Food allergy and eosinophilic esophagitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2010; 10: 231-237 [PMID: 20410819 DOI: 10.1097/ACI.0b013e328338cbab]
9 Hurrell JM, Genta RM, Dellon ES. Prevalence of esophageal eosinophilia varies by climate zone in the United States. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 698-706 [PMID: 22310220 DOI: 10.1038/ajg.2012.6]
10 王任之, 杨柯, 谢本江, 王海斌, 张永健, 梁小波, 邓兴臣. 嗜酸性胃肠炎的临床特点分析. 中国现代医学杂志 2011; 21: 3816-3818
11 Spergel JM, Brown-Whitehorn TF, Beausoleil JL, Franciosi J, Shuker M, Verma R, Liacouras CA. 14 years of eosinophilic esophagitis: clinical features and prognosis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2009; 48: 30-36 [PMID: 19172120 DOI: 10.1097/MPG.0b013e3181788282]
12 Okpara N, Aswad B, Baffy G. Eosinophilic colitis. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 2975-2979 [PMID: 19554649 DOI: 10.3748/wjg.15.2975]
13 Ekunno N, Munsayac K, Pelletier A, Wilkins T. Eosinophilic gastroenteritis presenting with severe anemia and near syncope. *J Am Board Fam Med* 2012; 25: 913-918 [PMID: 23136332 DOI: 10.3122/jabfm.2012.06.110269]
14 Oh HE, Chetty R. Eosinophilic gastroenteritis: a review. *J Gastroenterol* 2008; 43: 741-750 [PMID: 18958542 DOI: 10.1007/s00535-008-2230-5]
15 李静, 王邦茂, 张洁, 姜葵, 方维丽, 程静, 沈阳, 苏帅. 嗜酸粒细胞性胃肠炎临床分析24例. 世界华人消化杂志 2009; 17: 3760-3764

编辑 田滢 电编 鲁亚静

■同行评价
本文临床资料较齐全, 数据可信, 有一定的科学意义, 对临床诊断此疾病具有一定指导意义.

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》外文字符标准

本刊讯 本刊论文出现的外文字符应注意大小写、正斜体与上下角标. 静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服*po*, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P^H, *H pylori*不能写成HP, T1/2不能写成tl/2或$T\frac{1}{2}$, *V*max不能Vmax, μ不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种. 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H.pylori*), *Ilex pubescens* Hook, *et* Arn.*var.glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数*K*; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验和概率*P*, 相关系数*r*); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*)如*n*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), 例如*n*-butyl acetate(醋酸正丁酯), *N*-methylacetanilide(N-甲基乙酰苯胺), *o*-cresol(邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline(3-O-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine(右旋苯丙胺), *l*-dopa(左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸). 拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*; Ibid, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m*(质量), *V*(体积), *F*(力), *p*(压力), *W*(功), *v*(速度), *Q*(热量), *E*(电场强度), S(面积), *t*(时间), *z*(酶活性, kat), *t*(摄氏温度, ℃), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq), ρ(密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L), φ(体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径), T_{max}, C_{max}, *V*d, $T_{1/2}$ *CI*等. 基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白.

世界华人消化杂志 2013年4月18日; 21(11): 1040-1045
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

遗传性非息肉性大肠癌生物标志物的血清miRNAs的筛选

田晰晰, 珠 珠, 黄 鉴, 任俊宇, 王 跃, 张 楠, 陈明清, 董 坚

■背景资料
遗传性非息肉性大肠癌具有肿瘤的遗传性、高发性、多发性和肿瘤发生的多器官性等特点. miRNA是参与肿瘤发生发展的重要分子, 血清miRNA具有比一般蛋白质更适合作为肿瘤标志物的特点, 作为遗传性非息肉性大肠癌生物标志物的研究对于疾病的早期筛查诊断有一定的临床意义.

田晰晰, 王跃, 张楠, 董坚, 昆明医科大学附属第一医院肿瘤内科 云南省昆明市 650032
珠珠, 黄鉴, 任俊宇, 陈明清, 昆明医科大学附属第一医院肿瘤科 云南省昆明市 650032
田晰晰, 在读硕士, 主要从事大肠肿瘤的相关研究.
云南省社会发展科技计划基金资助项目, No. 2011FB160
作者贡献分布: 田晰晰与董坚对此文所做贡献均等; 此课题设计由董坚、陈明清、田晰晰及珠珠设计; 样本采集由田晰晰、珠珠、黄鉴、任俊宇、王跃、张楠及董坚操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由陈明清与董坚提供; 数据分析由田晰晰完成; 本论文写作由田晰晰、董坚及珠珠完成.
通讯作者: 董坚, 教授, 主任医师, 650032, 云南省昆明市西昌路295号, 昆明医科大学附属第一医院肿瘤内科.
dongjian18@yahoo.com
电话: 0871-65361621 传真: 0871-65361621
收稿日期: 2013-01-28 修回日期: 2013-03-14
接受日期: 2013-03-29 在线出版日期: 2013-04-18

Serum microRNAs as promising novel biomarkers for hereditary nonpolyposis colorectal cancer

Xi-Xi Tian, Zhu Zhu, Jian Huang, Jun-Yu Ren, Yue Wang, Nan Zhang, Ming-Qing Chen, Jian Dong

Xi-Xi Tian, Yue Wang, Nan Zhang, Jian Dong, Department of Oncology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan Province, China
Zhu Zhu, Jian Huang, Jun-Yu Ren, Ming-Qing Chen, Cancer Center, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan Province, China
Supported by: the Social Development Science and Technology Program of Yunnan Province, No. 2011FB160
Correspondence to: Jian Dong, Professor, Chief Physician, Department of Oncology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, 295 Xichang Road, Kunming 650032, Yunnan Province, China. dongjian18@yahoo.com
Received: 2013-01-28 Revised: 2013-03-14
Accepted: 2013-03-29 Published online: 2013-04-18

Abstract

AIM: To screen and identify serum microRNAs (miRNAs) that might be used as promising biomarkers for hereditary nonpolyposis colorectal cancer using miRNA array and qRT-PCR.

METHODS: Four serum samples from patients with hereditary nonpolyposis colorectal cancer and three serum samples from healthy controls were used to identify potential markers by miRNA array. The results of miRNA array were confirmed by qRT-PCR.

RESULTS: We found 57 up-regulated miRNAs and 30 down-regulated miRNAs by miRNA array, and 8 miRNAs were chosen for further analysis. Three target gene prediction programs were used to predict target genes of these 8 miRNAs, and 294 genes were predicted, all of which were target genes of mir-20a-5p, mir-548b-5p and mir-548as-3p. qPCR analysis confirmed that serum mir-548as-3p was significantly higher in patients with hereditary nonpolyposis colorectal cancer.

CONCLUSION: Our study demonstrates that serum miRNAs are differentially expressed in patients with hereditary nonpolyposis colorectal cancer, and that mir-548as-3p can potentially serve as a noninvasive biomarker for this disease.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Serum microRNAs; MicroRNA array; Hereditary nonpolyposis colorectal cancer; Biomarkers

Tian XX, Zhu Z, Huang J, Ren JY, Wang Y, Zhang N, Chen MQ, Dong J. Serum microRNAs as promising novel biomarkers for hereditary nonpolyposis colorectal cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(11): 1040-1045
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1040.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i11.1040

摘要

目的: 应用microRNA(miRNA)芯片筛选及qRT-PCR技术检测可作为遗传性非息肉性大肠癌生物标志物的血清miRNAs.

方法: 选取4个遗传性非息肉性大肠癌患者及3个无家族史正常人的血清miRNAs进行miRNA芯片检测, 再用q-PCR方法对于芯片结果进行验证.

结果: miRNA芯片筛查出57个上调及30个下

■同行评议者
顾国利, 副主任医师, 中国人民解放军空军总医院普通外科; 王娅兰, 教授, 重庆医科大学基础医学院病理教研室

调miRNAs, 在这些差异性表达的miRNAs中选出8个较为理想的miRNAs作进一步研究, 运用3个靶基因预测软件预测靶基因后取交集, 得到294个靶基因, 均是属于mir-20a-5p, mir-548b-5p和mir-548as-3p的靶基因. 用qPCR的方法在标本中进行验证发现mir-548as-3p的表达情况符合芯片结果-在遗传性非息肉性大肠癌患者血清中表达上调.

结论: 血清miRNAs在遗传性非息肉性大肠癌患者中的差异性表达, mir-548as-3p可能为遗传性非息肉性大肠癌非侵入性的生物标志物.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 血清microRNAs; MicroRNAs芯片; 遗传性非息肉性大肠癌; 生物标志物

核心提示: 应用微小RNA(microRNA, miRNA)芯片筛选出可作为遗传性非息肉性大肠癌生物标志物的血清miRNA-mir-548as-3p, 在遗传性非息肉性大肠癌患者血清中显著表达上调. 通过qRT-PCR技术在样本中验证miRNA芯片结果的准确性.

田晰晰, 珠珠, 黄鉴, 任俊宇, 王跃, 张楠, 陈明清, 董坚. 遗传性非息肉性大肠癌生物标志物的血清miRNAs的筛选. 世界华人消化杂志 2013; 21(11): 1040-1045 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1040.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i11.1040

0 引言

大肠癌为我国最常见的恶性肿瘤之一, 正以年增长率4.2%的速度逐渐接近欧美发达国家水平(位居第2位), 而遗传性非息肉性大肠癌(hereditary non-polyposis colorectal cancer, HNPCC), 又称Lynch综合征在大肠癌中占10%-15%, 具有肿瘤的遗传性、高发型、多发性和肿瘤发生的多器官性等特点, 其主要的发病机制是错配修复基因(mismatch repair gene, MMR)的突变, 是危害人类健康的主要疾病之一[1-3]. 微小RNA(microRNA, miRNA)是一类长度大约为22个核苷酸的内源性高度保守的非编码单链小RNA分子, 通过与靶基因转录体mRNA互补来降解靶基因或对靶基因进行翻译抑制, 具有癌基因和抑癌基因样作用, 是参与肿瘤发生发展的重要分子. 近年来研究发现[4-7]肿瘤患者的血清血浆中确实存在肿瘤来源的表达特异性的miRNA, 由于血清血浆中miRNA能够逃逸内源性核糖核酸酶的消化, 并且在强酸、强碱、高温、反复冻融、过夜核糖核酸酶消化等条件下都能较稳定地表达, 故研究人员普遍认为血清血浆miRNA比一般蛋白质更适合作为肿瘤标志物. Valeri等[8]研究发现HNPCC患者MMR基因突变频率最高的3个基因-hMLH1、hMSH2、hMSH6是mir-155的靶基因, 说明HNPCC与miRNA之间存在联系.本研究通过miRNA芯片检测HNPCC患者血清与正常人血清miRNA表达谱, 初步探讨血清miRNA作为遗传性非息肉性大肠癌生物标志物的可行性.

■研发前沿

血清miRNA作为生物标志物在疾病中的临床应用已经成为近年来国内外研究的热点, 并且已经发现多种疾病潜在的miRNA生物标志物, 但若真正成为对临床有指导意义的肿瘤标志物还需要更多实验研究支持.

1 材料和方法

1.1 材料 共25例血清样本: 来自6个HNPCC家系的10例HNPCC患者血清男6例、女4例和9例家系正常人血清(有3例结肠镜检查发现有1-2个息肉; 男5例, 女4例), HNPCC患者与家系正常人来自相同的6个家系, 还有6例无HNPCC家族史正常人血清(男3例, 女3例). 本研究所选6个HNPCC家系均符合AC Ⅱ标准[2]. 研究用人血清样本均获得昆明医科大学附属第一医院伦理委员会的批准, 并取得受试者的知情同意.

1.2 方法

1.2.1 miRNA芯片检测: 采用丹麦Exiqon公司的miRCURYTM LAN miRNA芯片, miRNA芯片检测的样本: 实验组: HNPCC患者*vs*对照组: 无家族史正常人. 分别取200 μL的血清, 按照说明书用TRIzol(Invitrogen) and miRNeasy mini kit (QIAGEN)提取miRNA并用NanoDrop 1000进行miRNA浓度及纯度检测, 采用miRCURY™ Array Power标志试剂盒, 用标记酶Hy3™或Hy5™ 荧光集团标记miRNA, 可以得到用于与芯片杂交的荧光探针, 在标准条件下使用MAUI杂交仪, 将标记好的探针和miRCURY™芯片进行杂交, 重复4次实验. 使用Axon GenePix 4000B芯片扫描仪扫描芯片的荧光强度, 并将实验结果转化成数字型数据保存.

1.2.2 miRNA提取: 取200 μL血清应用miRNeasy mini kit(QIAGEN)按照说明书进行miRNA提取, 用NanoDrop 1000进行miRNA浓度及纯度检测, 于-80 ℃保存.

1.2.3 逆转录反应: 按照One Step PrimeScript miRNA cDNA Synthesis Kit(TAKARA)说明书对miRNA样本进行反转录. 反应条件: 37 ℃ 60 min, 85 ℃ 5 s.

1.2.4 qRT-PCR: 用购自Takara hsa-mir-548as-3p引物, 以cDNA为模版, hsa-mir16[9]为内参, 进

■相关报道
Huang等研究发现血浆mir-29a和mir92a可作为早期散发性结直肠癌的潜在生物标志物, 并且发现这两个miRNA在早期结直肠癌术前和术后的表达量也不一致, 这说明血清血浆miRNA不仅可以作为早期诊断结直肠癌的生物标志物还有可能作为判断预后的重要指标.

表 1 血清miRNA差异性表达

名称	上调		名称	下调	
	改变倍数	*P*值		改变倍数	*P*值
mir-548as-3p	3.7	0.001	mir-20a-5p	0.13	0.04
mir-4747-5p	3.15	0.009	mir-548t-5p	0.19	0.048
mir-1827	2.9	0.004	mir-548b-5p	0.53	0.029
			mir-5187-3p	0.40	0.021

行qPCR, 设置3个复孔.按照SYBR® Premix Ex Taq™ II (TAKARA)说明书操作, 反应条件: 95 ℃ 30 s; 95 ℃ 5 s, 60 ℃ 30 s共40个循环; 95 ℃ 15 s; 60 ℃ 1 min; 95 ℃ 15 s. 荧光定量qPCR仪为StepOnePlus(ABI).

统计学处理 数据处理及统计分析microRNA芯片结果转化成数字型数据保存, 使用GenePix Pro 6.0 software软件对原始数据进行分析运算. 运用Miranda、Targetscan、Mirbase 3个预测软件进行靶基因预测. qRT-PCR实验结果采用SPSS13.0统计软件进行分析, 图表以mean±SD的形式表示.

2 结果

miRNA芯片检测出HNPCC患者血清中较正常人血清有57个上调及30个下调特异性表达的miRNAs(图1). 根据筛选原则: 1 Fold Change值、*P*值及ForeGround值(理想值>60)取在正常人组、患者组内数值较为平均的miRNA; 2在两组间平均数值差异性明显的miRNA. 筛选出7个较为理想的miRNAs(表1)进行靶基因预测, 分别用Miranda、Targetscan、Mirbase 3个预测软件进行靶基因预测后取交集得到294个靶基因是mir-20a-5p, mir-548b-5p和mir-548as-3p的靶基因(图2).

HNPCC患者、家系正常人和无家族史正常人血清中mir-548-as-3p表达量的差异性比较. 10例HNPCC患者mir-548-as-3p在血清中的表达量是6例无家族史正常人的9.30倍±3.47倍($P<0.01$, $t = 6.72$ *vs*无家族史正常人); 6例家系正常人mir-548-as-3p在血清中的表达量是6例无家族史正常人的1.37倍±1.1倍($P>0.05$), 故说明家系正常人与无家族史正常人血清mir-548as-3p表达无差异性, 而HNPCC患者血清mir-548-as-3p的表达量相较于家系正常人及无家族史正常人均显著升高(图3A).

3例有结直肠息肉的家系正常人血清mir-548-as-3p表达量是无家族史正常人的4.43倍±1.46倍($P<0.05$, $t = 4.89$ *vs*无家族史正常人), 而来源相同家系的3例HNPCC患者mir-548-as-3p血清中表达量是无家族史正常人的8.18倍±2.54倍($P<0.05$, $t = 4.06$ *vs*无家族史正常人), 故有结直肠息肉家系正常人mir-548-as-3p在血清中的表达量高于无家族史正常人略低于HNPCC患者(图3B).

3 讨论

目前对于HNPCC的临床诊断一般参照AC II标准[2]: (1)1个家族中至少有3例以上患HNPCC相关癌(结直肠癌、子宫内膜癌、小肠癌、输尿管和肾盂癌); (2)其中1例是另外2例的直系亲属; (3)必须累及到连续两代人; (4)至少有1人诊断时<50岁; (5)除外家族性腺瘤; (6)肿瘤经病理证实. 而该诊断标准对于HNPCC家系成员的早期筛查和诊断的意义不大. 文献报道, 对于MLH1和MSH2基因免疫组织化学的检测能发现90%以上的HNPCC患者, 但这是一种有创、不便、令人感觉不适的检测方法, 并且仍然有一定的漏检率, 因此寻找一种新型的, 无创的生物标志物辅助诊断就尤为重要. Chen等[7]研究发现, 血清中含有大量稳定的miRNA, 他可能比一般蛋白质更适合作为生物标志物, 并且发现取等量的血清不提取miRNA直接进行semi-quantitative RT-PCR与血清中提取miRNA后进行semi-quantitative RT-PCR的表达量无明显差异, 若今后作为生物标志物应用于临床则是一种方便快捷准确的临床检验方法.

通过miRNA芯片检测到87个差异性表达的miRNAs, 从中筛选出7个较为可靠的差异性表达的血清miRNAs-mir-548as-3p、mir-4747-5p、mir-1827、mir-20a-5p、mir-548t-5p、mir-548b-5p、mir-5187-3p. 其中mir-1827有一篇与小细胞肺癌相关文献[10], 而关于mir-548家族有一篇详尽的关于其功能等的深入研究报道[11], mir-20a有很多相关文献报道过其与结直肠癌的关系[12], 但

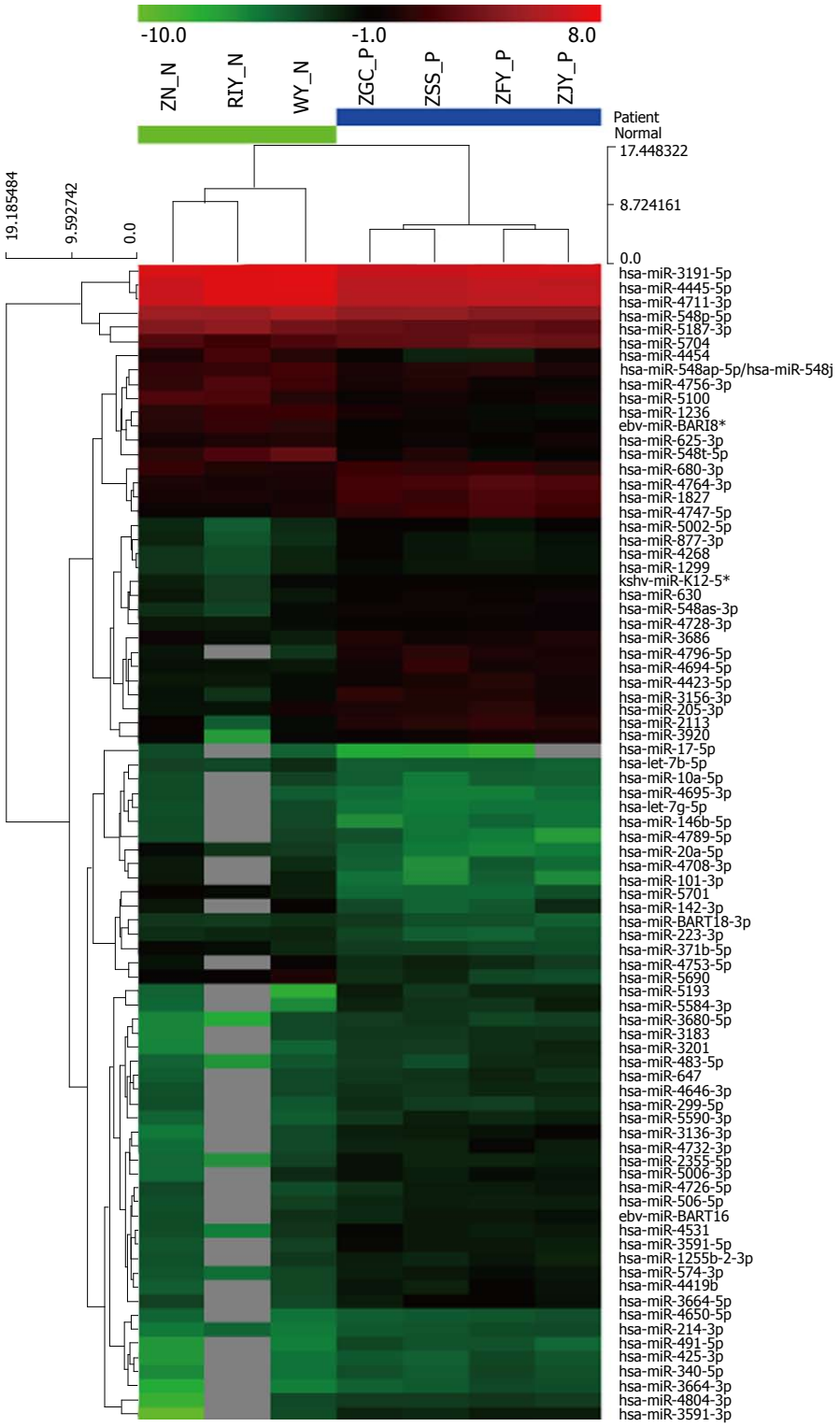


图 1 血清miRNAs芯片的筛选结果. 无家族史正常人*vs* HNPCC患者.

■创新盘点

国内外关于血清miRNA在遗传性非息肉性大肠癌的筛查鲜有报道, 而HNPCC又是具有遗传性的肿瘤, 若能找到作为早期诊断的优良生物标志物对于提高患者生活质量及生存率有重大意义.

是本研究所筛选出的miRNAs并不是那些为人熟知的, 功能及对肿瘤的作用研究透彻的miRNAs. 有文献报道过的miRNAs也是数量有限的, 为我们今后继续HNPCC的血清miRNA表达谱的研究提供了广泛空间.

利用qPCR在25例血清样本中验证了miRNA芯片结果-mir-548-as-3p在HNPCC患者血清中的表达量明显高于无家族史正常人和家系正常人. 值得注意的是来自3个不同家系有结直肠息肉的家系正常人血清mir-548as-3p的表达量虽然低于相应家系中HNPCC患者, 但是较无息肉家系正常人及无家族史的正常人来说表达量

■应用要点

血清miRNA作为遗传性非息肉性大肠癌生物标志物的可能性并提供一定的依据. 若要应用于临床还需更为精细的研究设计, 更大的样本量反复验证.

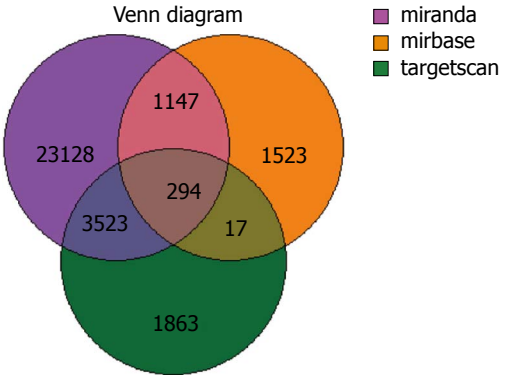


图 2 Venn plot在miranda、mirbase、targetscan 3个靶基因预测软件的综合预测结果.

高4倍. 这一实验结果可否说明血清mir-548-as-3p可以作为HNPCC早期筛查的生物标志物? 设想若可以作为辅助HNPCC早期筛查诊断的一种生物标志物, 当有HNPCC家族史的家系成员除做肠镜筛查排除患HNPCC的可能外, 在通过血清mir-548as-3p检测发现表达量升高时, 便可通过改变生活习惯或做预防性治疗措施来降低HNPCC的发病率, 对提高家系成员的生活质量有重大意义.

通过miranda、mirbase、targetscan 3个靶基因预测软件预测找到了101个mir-548as-3p的靶基因. 有较为常见的癌基因BAG2、BAX、BCL3、GLI3、MLL、RAD51、TGFBR3等. 这些基因在肿瘤的发生发展中都发挥了一定的作用, 其中BAG2、BAX、BCL3、GLI3有文献报道是结直肠癌相关基因[13-16], MLL主要为急性淋巴细胞白血病和急性髓细胞样白血病相关基因. TGFBR3也为多种癌症相关基因. RAD51参与DNA/RNA损伤修复的基因, 与遗传性乳腺癌的相关[17], 而HNPCC主要致病因素就是错配修复基因的突变引起, 所以值得思考的是RAD51与HNPCC是否相关? HNPCC又称Lynch综合征(癌症家族综合征), 他不仅指结直肠癌还是与众多癌症相关的综合征, 故也正与我们预测的miRNAs靶基因是与多种肿瘤相关基因这一结果相符. 而这些基因参与的通路及细胞功能作用等问题都需要我们在今后的进行更进一步的研究来解释.

本文对血清miRNAs与遗传性非息肉性大肠癌进行了初步的研究, 找到了血清miRNAs与HNPCC间的联系, 而关于这种联系的机制还需在今后做大量的科学研究工作-扩大样本量来进一步验证血清miRNA的芯片结果以及关于

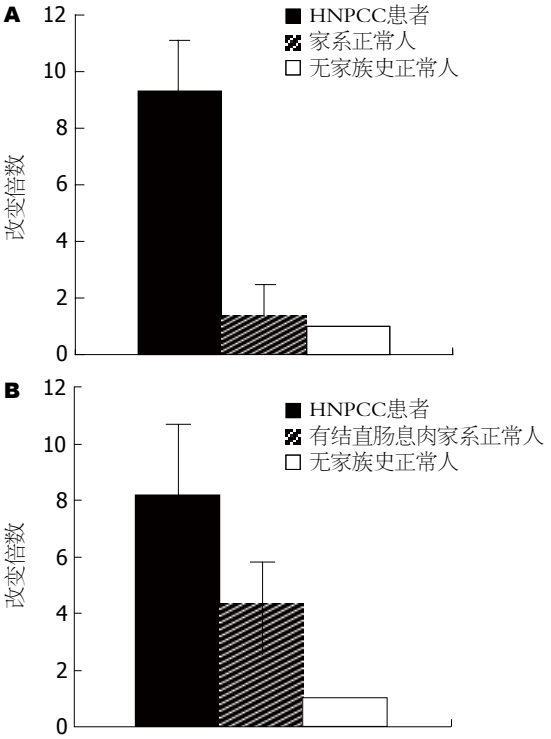


图 3 利用q-PCR方法验证HNPCC患者、家系正常人、无家族史正常人血清mir-548as-3p差异性表达. A: HNPCC患者、家系正常人、无家族史正常人血清mir-548-as-3p差异性表达; B: HNPCC患者及与其相对应家系中肠镜检查有1-2个结直肠息肉的正常人, 与3例无家族史正常人血清mir-548-as-3p差异性表达.

miRNA与靶基因, 靶基因与HNPCC间进行更深入的研究以期望发现对于HNPCC早期筛查、诊断、治疗有价值的生物标志物来提高病患的生活质量及生存率.

4 参考文献

1 陈明清, 珠珠, 戴丽萍, 魏万里, 杨军, 张洪斌, 董坚. 云南省遗传性大肠癌组织库的建立与管理. 世界华人消化杂志 2008; 16: 3122-3125

2 齐芸, 黄桂林. 遗传性非息肉性结直肠癌研究进展. 现代肿瘤医学 2012; 7: 1447-04

3 Rodriguez-Bigas MA, Boland CR, Hamilton SR, Henson DE, Jass JR, Khan PM, Lynch H, Perucho M, Smyrk T, Sobin L, Srivastava S. A National Cancer Institute Workshop on Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer Syndrome: meeting highlights and Bethesda guidelines. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89: 1758-1762 [PMID: 9392616]

4 Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, Fritz BR, Wyman SK, Pogosova-Agadjanyan EL, Peterson A, Noteboom J, O'Briant KC, Allen A, Lin DW, Urban N, Drescher CW, Knudsen BS, Stirewalt DL, Gentleman R, Vessella RL, Nelson PS, Martin DB, Tewari M. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 10513-10518 [PMID: 18663219 DOI: 10.1073/pnas.0804549105]

5 Taylor DD, Gercel-Taylor C. MicroRNA signatures of tumor-derived exosomes as diagnostic biomarkers of ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2008; 110: 13-21

[PMID: 18589210 DOI: 10.1016/j.ygyno.2008.04.033]
6 Tsujiura M, Ichikawa D, Komatsu S, Shiozaki A, Takeshita H, Kosuga T, Konishi H, Morimura R, Deguchi K, Fujiwara H, Okamoto K, Otsuji E. Circulating microRNAs in plasma of patients with gastric cancers. *Br J Cancer* 2010; 102: 1174-1179 [PMID: 20234369 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605608]
7 Chen X, Ba Y, Ma L, Cai X, Yin Y, Wang K, Guo J, Zhang Y, Chen J, Guo X, Li Q, Li X, Wang W, Zhang Y, Wang J, Jiang X, Xiang Y, Xu C, Zheng P, Zhang J, Li R, Zhang H, Shang X, Gong T, Ning G, Wang J, Zen K, Zhang J, Zhang CY. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res* 2008; 18: 997-1006 [PMID: 18766170 DOI: 10.1038/cr.2008.282]
8 Valeri N, Gasparini P, Fabbri M, Braconi C, Veronese A, Lovat F, Adair B, Vannini I, Fanini F, Bottoni A, Costinean S, Sandhu SK, Nuovo GJ, Alder H, Gafa R, Calore F, Ferracin M, Lanza G, Volinia S, Negrini M, McIlhatton MA, Amadori D, Fishel R, Croce CM. Modulation of mismatch repair and genomic stability by miR-155. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 6982-6987 [PMID: 20351277]
9 Lawrie CH, Gal S, Dunlop HM, Pushkaran B, Liggins AP, Pulford K, Banham AH, Pezzella F, Boultwood J, Wainscoat JS, Hatton CS, Harris AL. Detection of elevated levels of tumour-associated microRNAs in serum of patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Br J Haematol* 2008; 141: 672-675 [PMID: 18318758 DOI: 10.1111/j]
10 Xiong F, Wu C, Chang J, Yu D, Xu B, Yuan P, Zhai K, Xu J, Tan W, Lin D. Genetic variation in an miRNA-1827 binding site in MYCL1 alters susceptibility to small-cell lung cancer. *Cancer Res* 2011; 71: 5175-5181 [PMID: 21676885 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-4407]
11 Liang T, Guo L, Liu C. Genome-wide analysis of mir-548 gene family reveals evolutionary and functional implications. *J Biomed Biotechnol* 2012; 2012: 679563 [PMID: 23091353 DOI: 10.1155/2012/679563]
12 Chai H, Liu M, Tian R, Li X, Tang H. miR-20a targets BNIP2 and contributes chemotherapeutic resistance in colorectal adenocarcinoma SW480 and SW620 cell lines. *Acta Biochim Biophys Sin* (Shanghai) 2011; 43: 217-225 [PMID: 21242194 DOI: 10.1093/abbs/gmq125]
13 Kambara T, Sharp GB, Nagasaka T, Takeda M, Sasamoto H, Nakagawa H, Isozaki H, MacPhee DG, Jass JR, Tanaka N, Matsubara N. Allelic loss of a common microsatellite marker MYCL1: a useful prognostic factor of poor outcomes in colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 1758-1763 [PMID: 15014029]
14 Ji H, Kumm J, Zhang M, Farnam K, Salari K, Faham M, Ford JM, Davis RW. Molecular inversion probe analysis of gene copy alterations reveals distinct categories of colorectal carcinoma. *Cancer Res* 2006; 66: 7910-7919 [PMID: 16912164 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-0595]
15 Van Waes C. Nuclear factor-kappaB in development, prevention, and therapy of cancer. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 1076-1082 [PMID: 17317814 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-06-2221]
16 Kang HN, Oh SC, Kim JS, Yoo YA. Abrogation of Gli3 expression suppresses the growth of colon cancer cells via activation of p53. *Exp Cell Res* 2012; 318: 539-549 [PMID: 22227409 DOI: 10.1016/j.yexcr.2011.12.010]
17 Kato M, Yano K, Matsuo F, Saito H, Katagiri T, Kurumizaka H, Yoshimoto M, Kasumi F, Akiyama F, Sakamoto G, Nagawa H, Nakamura Y, Miki Y. Identification of Rad51 alteration in patients with bilateral breast cancer. *J Hum Genet* 2000; 45: 133-137 [PMID: 10807537 DOI: 10.1007/s100380050199]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

■同行评价

本文的研究方法和技术具有一定创新性、系统性. 结果基本可靠, 统计学处理方法的使用恰当. 文章的科学性、创新性较好, 能够反映HNPCC基础研究的先进水平.

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2013年4月18日; 21(11): 1046-1049
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

腹腔镜超声影像技术引导机器人辅助腹部手术的临床应用

姜 朋, 牟培源, 周宁新, 白媛媛

■背景资料
具有腹腔镜与高分辨率术中超声融为一体的腹腔镜超声(LUS)影像技术可在很大程度上辅助外科医生对病灶进行精确定位并指导手术路径及术式的选择, 随着腹腔镜及机器人手术系统为代表的腹部微创外科的发展, LUS将更加广泛的应用于临床.

姜朋, 牟培源, 周宁新, 白媛媛, 中国人民解放军第二炮兵总医院全军肝胆胃肠病专科中心 北京市 100088
姜朋, 在读硕士, 现在中国人民解放军二炮总医院进行研究生临床阶段学习.
作者贡献分布: 姜朋与牟培源共同设计完成; 本文由姜朋、牟培源、周宁新及白媛媛共同完成.
通讯作者: 牟培源, 主任医师, 100088, 北京市西城区新外大街16号, 中国人民解放军第二炮兵总医院全军肝胆胃肠病专科中心. pymu@sina.com
电话:010-66343097
收稿日期: 2012-12-31 修回日期: 2013-03-06
接受日期: 2013-04-07 在线出版日期: 2013-04-18

Clinical effects of laparoscopic ultrasound imaging in robot-assisted abdominal surgery

Peng Jiang, Pei-Yuan Mu, Ning-Xin Zhou, Yuan-Yuan Bai

Peng Jiang, Pei-Yuan Mu, Ning-Xin Zhou, Yuan-Yuan Bai, Center for Hepatobiliary and Gastrointestinal Diseases, the Second Artillery General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100088, China
Correspondence to: Pei-Yuan Mu, Chief Physician, Center for Hepatobiliary and Gastrointestinal Diseases, the Second Artillery General Hospital of Chinese PLA, 16 Xinwai Street, Xicheng District, Beijing 100088, China. pymu@sina.com
Received: 2012-12-31 Revised: 2013-03-06
Accepted: 2013-04-07 Published online: 2013-04-18

Abstract
AIM: To explore the clinical effects of laparoscopic ultrasound imaging technique in robot-assisted abdominal surgery.

METHODS: Twenty-eight patients (including three with intrahepatic bile duct stones, three with calculous cholecystitis, eight with hepatic tumor, seven with hilar cholangiocarcinoma, four with pancreatic tumor, and three with hypersplenism) who underwent laparoscopic ultrasound-guided robot-assisted abdominal surgery in our hospital were included in our study. Laparoscopic ultrasound was used to determine the location of lesions and their relation with nearby tissue, choose the optimal surgical method, guide the pathway and evaluate the effects during surgery. The clinical effects were evaluated by ultrasound, contrast-enhanced CT, MRCP and biochemical assays after surgery.

RESULTS: All surgical procedures were performed successfully, and no serious intraoperative or postoperative complications occurred. Biochemical parameters returned or approached to normal levels. In RFA regions, color Doppler ultrasound imaging showed no color signal and contrast-enhanced CT showed no enhancement. Ultrasonography, CT or MRCP detected no abnormity in the bile duct. The volume of the entire spleen and damaged part of the spleen from RFA regions were measured by enhanced CT, and the percentages of damaged part of the spleen were 43%, 45% and 49%.

CONCLUSION: Laparoscopic ultrasound can not only determine the lesion and guide the operative route but also help surgeons to select the operative strategy. With the development of robot-assisted surgical system, laparoscopic ultrasound will become an indispensable part of this surgery.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Laparoscopic ultrasonography; Imaging technique; Robot; Abdomen; Surgery

Jiang P, Mu PY, Zhou NX, Bai YY. Clinical effects of laparoscopic ultrasound imaging in robot-assisted abdominal surgery. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(11): 1046-1049 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1046.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i11.1046

摘要
目的: 探讨腹腔镜超声影像技术引导机器人辅助腹部手术的临床应用效果.

方法: 对28例患者(肝内胆管结石3例, 结石性胆囊炎3例, 肝占位8例, 肝门部胆管癌7例, 胰腺占位4例, 脾功能亢进3例)实施腹腔镜超声引导机器人辅助腹部手术治疗, 手术过程中应用腹腔镜超声探查病变部位、与周围组织器官关系以选择手术方式, 引导手术路径并评价效果, 术后采用超声、CT增强扫描、磁共

■同行评议者
刘海峰, 主任医师, 北京市武警总医院消化科

振胰胆管成像(magnetic resonance cholangiopancreatography, MRCP)及生物化学等指标评价手术效果.

结果: 28例患者腹腔镜超声引导机器人辅助腹部手术均获得成功, 术中、术后均未出现严重并发症, 生化指标恢复或接近正常, 术后超声检查射频消融区无血流信号, CT增强扫描未见强化, 超声、CT、MRCP检查胆管未见明显异常, CT体积测定射频消融范围占脾脏体积的数值分别为43%、45%、49%.

结论: 腹腔镜超声可在机器人辅助腹部手术中起引导定位作用, 并且可以指导手术方式的选择. 随着机器人手术的不断成熟, 腹腔镜超声将成为实施该项手术不可或缺的组成部分.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 腹腔镜超声; 影像技术; 机器人; 腹部; 手术

核心提示: 具有腹腔镜与高分辨率术中超声技术融为一体的腹腔镜超声(laparoscopic ultrasonography, LUS)可在机器人辅助腹部手术中起引导定位作用, 并且可以指导手术方式的选择, 提高了机器人腹部微创手术的安全性、合理性和彻底性. 随着机器人手术的不断成熟, LUS将成为实施该项手术不可或缺的组成部分.

姜朋, 牟培源, 周宁新, 白媛媛. 腹腔镜超声影像技术引导机器人辅助腹部手术的临床应用. 世界华人消化杂志 2013; 21(11): 1046-1049 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1046.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i11.1046

0 引言

腹腔镜超声(laparoscopic ultrasonography, LUS)是在腹腔镜外科发展的基础上, 将腹腔镜手术与具有高分辨率的术中超声检查融于一体的技术. 自2000年美国食品药品管理(FDA)批准Da Vinci机器人手术系统应用于临床以来, 其在外科许多领域应用的可行性得到证实[1]. Da Vinci机器人手术系统具有微创性、高精确性及图像清晰稳定等优点, 但是术中不能直观显示组织器官内部的病灶情况、病灶与周围组织器官结构关系等, 这在一定程度上限制了该手术系统的临床应用. 而腹腔镜超声系统与Da Vinci手术系统的融合, 使外科医师既能检查组织脏器表面, 又能通过超声影像观察其内部情况, 克服了在操作过程中术者触觉反馈减弱或丧失的问题. 我们通过对LUS在机器人辅助腹部手术中的初步临床应用的探索, 获得了较为满意的临床应用效果, 现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 2011-04/2012-09在中国人民解放军第二炮兵总医院行腹腔镜超声引导机器人辅助腹部手术治疗的患者28例, 其中, 男17例, 女11例, 年龄38-82岁. 其中肝内胆管结石3例, 结石性胆囊炎3例, 肝占位8例(直肠癌肝转移2例, 肝细胞癌6例), 肝门部胆管癌7例, 胰腺占位4例(胰腺癌3例, 胰岛β细胞瘤1例), 脾功能亢进症3例. 以上患者病灶性质均经腹部超声、增强CT、增强MRI、MRCP、腹腔镜超声及病理证实. 术中采用ALOKA-3500型超声诊断仪(超声探头为专用ALOKALUS探头, 探头型号: UST-MC11-8731, 频率7.5 MHz, 轴直径10 mm, 长度310 mm), Da vinci机器人手术系统, 腹腔镜设备(AIM型), 射频消融治疗仪(RITA-1500X型).

1.2 方法 所有患者术前均无需特殊准备, 麻醉与常规开腹及腹腔镜手术相同, 全麻成功后, 取相应手术体位, 常规消毒, 铺巾. 在病灶相应表面切开皮肤1.0-1.2 cm, 气腹针穿刺, 建立人工气腹, Trocar穿刺置入LC, 在LC监视下放置镜头Trocar、操作臂Trocar及辅助Trocar. 手术过程中行LUS探查以确认病灶, 并观察病变程度及其与周围组织器官结构关系, 根据探查结果对患者行适宜手术治疗. 治疗过程中应用LUS引导手术路径. 治疗结束后, 行LUS探查以监测病灶治疗情况. 经LUS确认无误后停气腹, 卸除机器人系统, 拔除Trocar, 缝合切口, 包扎固定. 术后观察指标: 体温、进食情况、血常规、空腹血糖、肝肾功能、甲胎蛋白浓度, 腹部超声、CT增强扫描与MRCP, 并根据观察结果初步评价治疗效果.

2 结果

28例患者LUS引导下机器人手术(laparoscopic ultrasound-guided robot-assisted abdominal surgery, LUS-RAS)均获得成功, 手术过程顺利, 治疗效果满意, 术后虽有一过性体温及转氨酶升高, 但未出现严重术后并发症. 肝内胆管结石患者(3例)均行LUS-RAS肝管切开取石, 术中平均出血量350 mL, 术后复查胆管超声、CT检查及MRCP均未见异常. 结石性胆囊炎患者(3例)均行LUS-RAS胆囊切除术. 肝占位患者中, 其中6例行LUS-RAS肿瘤射频消融(radiofrequency ablation, RFA)术, 2例分别行LUS-RAS肝左叶切除术和LUS-RAS肝右叶包块切除术, 术后肝脏及全身情况良好, 治疗区超声复查未见明显血流

■相关报道
Våpenstad等根据对40位来自不同国家(85%来自欧洲)的177位外科医生的调查, 认为LUS是一种可以增加手术安全性并提高肿瘤切除率的有效工具.

■应用要点
腹腔镜超声对腹部病灶具有较高的分辨率与检出率, 在机器人辅助腹部手术中可对病灶精确定位, 并且引导手术路径.

信号, CT增强扫描未见增强, 甲胎蛋白浓度趋于正常. 肝门部胆管癌患者中, 5例行肿瘤根治切除术, 2例因LUS探查发现肝内小转移灶而改变术式, 术后黄疸症状得到有效缓解. 胰腺占位患者中, 2例经LUS探查肿瘤与大血管关系密切, 难以进行手术切除, 予以LUS引导下化疗药注入治疗, 术后皮肤、巩膜黄染均较术前缓解, 1例肿瘤位于胰体尾交界处, 且LUS探查未发现明确转移灶, 予以LUS-RAS胰体尾切除术, 术后病理证实为胰腺癌, 1例胰岛β细胞瘤患者经LUS探查明确具体位置、与周围组织关系及与主胰管距离后行胰岛β细胞瘤切除术, 患者术前空腹血糖浓度为2.16 mmol/L, 胰岛素/血糖>0.4, 饥饿试验阳性, 术后次日空腹血糖为8.15 mmol/L, 较术前明显升高, 出院前多次测空腹血糖, 均恢复至6.0-7.5 mmol/L. 脾功能亢进患者(3例)在LUS引导下行射频消融术后CT体积测定显示, RFA消融范围占脾脏体积的数值分别为43%、45%、49%, 术后复查血常规, 白细胞和血小板计数均显著升高.

3 讨论

目前, 国外手术机器人已在泌尿外科、心胸外科、妇科和腹部外科等领域逐渐普及[2-5]. 机器人手术系统不但具有传统内镜手术的优点, 而且还能提供10倍放大与三维立体成像, 手术医师可更精确的辨认手术野内的组织器官结构, 还可以消除手震颤, 增加自由度. 虽然该手术系统具有诸多优点, 但是术中不能直观显示组织器官内部的病灶情况、病灶与周围组织器官结构关系等. 而腹腔镜超声影像技术对病灶定位清楚, 可精确引导手术路径, 在手术过程中充当了“透视眼”与“指挥棒”的重要角色. 我们在肝内胆管取石术中, 根据腹腔镜超声确定的结石所在位置, 明确所在胆管与血管的关系, 然后在LUS引导下, 逐渐钝性分离肝脏组织, 寻找结石所在胆管. 肝左叶切除术及肝右叶包块切除术由腹腔镜超声辅助确定肝切除线, 在LUS引导下行肝组织离断术, LUS可以提供肿瘤切除范围及与周围重要血管、胆管的关系, 进而指导手术时避开或切除, 其提供了切除路径, 指导了切除范围, 并在切除过程当中对血管、胆管准确定位, 避免了副损伤. LUS“透视眼”与“指挥棒”的角色在术中得到了充分体现. 肝门部胆管癌是治疗目标是根治性切除, 对于不能切除的患者, 则应采取姑息性治疗以提高生活和生存质量, LUS可判定肿瘤的可切除性[6]. 我们7例肝门部胆管癌患者, 其中5例在LUS探查后未发现转移灶进行根治切除术, 2例经LUS探查发现肝内小转移灶而丧失根治机会, 遂进行姑息性引流治疗.

胆管损伤是腹腔镜胆囊切除术中最常见、最严重的并发症[7], 并且胆管的变异较多亦应引起足够的重视, 正确辨认和正确处理Calot三角, 是腹腔镜胆囊切除术手术成功的关键. 文献报道[8], LUS能在腹腔镜胆囊切除术术中为术者提供肝外胆管的超声图像并发现胆囊管异常汇入, 准确定位胆总管, 既可避免医源性胆管损伤, 又可根据LUS的扫描结果决定腹腔镜胆囊切除术的手术方法, 保证手术质量. 我们在机器人辅助胆囊切除术中, 通过对胆管的解剖结构的辨认, 避免了对胆道结构的误伤.

虽然, 开放性手术是肝癌和结直肠癌肝转移治疗的金标准[9]. 但是, 大多数肝脏肿瘤患者的病灶是不可切除的. LUS可准确判定肿瘤的可切除性, 从而避免不必要的剖腹探查. Våpenstad等[10]根据对40位来自不同国家(85%来自欧洲)的177位外科医生的调查, 认为LUS是一种可以增加手术安全性和提高肿瘤切除率的很好工具. Santambrogio等[11]报道在50例肝脏肿瘤患者中, 腹腔镜超声发现腹腔镜未探及肿瘤的病例占33%以及42%腹腔镜检查所不能发现的分期诊断信息, 减少了不必要的剖腹探查, 由于腹腔镜超声分期诊断的应用, 肿瘤切除率从58%明显提高到93%. 对于不可切除的肿瘤患者, 腹腔镜射频消融术(LRFA)治疗肝脏恶性肿瘤是安全的[12]. Lee等[13]报道, 在接受腹腔镜下RFA的30例患者中, 有5例患者同时进行腹腔镜肝切除术, 术中腹腔镜超声检测到新的恶性病变4例(13.3%), 所有患者术后无死亡, 肝细胞癌组和转移性肝癌组3年总生存率分别为83.7%、64.3%. 我们在机器人微创手术中对6例肝占位患者行腹腔镜超声探查后发现均失去手术切除可能, 遂在LUS引导下行RFA术. 术中LUS准确定位病灶所在位置, 探明病灶与周围重要血管、胆管的关系后, 引导射频针进入病灶内部, 对其进行射频消融治疗, 治疗结束后, 立即行LUS监测射频治疗效果, 确认对周围血管与胆管无副损伤, 所有患者术后恢复良好.

由于机器人手术系统建立的人工气腹为LUS探查提供了一个宽敞的空间, 探头可以直接接触靶器官进行探查. 因此, 既避免了腹壁等物

理屏障的影响, 又可排除肠道气体的干扰, 使得LUS对病变部位具有较高的检出率与分辨率, 特别是对胰腺等位置较深的器官. LUS检查对判断胰腺癌的可切除性具有很高的临床价值, 其正确性、敏感性可分别达90%和95%[14]. 我们在LUS-RAS中对胰腺占位患者进行LUS探查, 2例胰腺癌患者因包绕门静脉或肝脏出现小转移灶而失去根治性切除可能, 其中肝脏小转移灶为新发病灶, 2例患者均在LUS引导下注入化疗药行姑息性治疗, 1例患者肿瘤位于胰腺体尾交界处, 且未探及远处转移灶, 予以LUS-RAS胰体尾切除术, 另一例患者为胰岛β细胞瘤患者, 经LUS探查明确具体位置、与周围组织关系及与主胰管距离后行胰岛β细胞瘤切除术, 手术过程顺利, 术后恢复良好. 刘全达等[15]研究证明RFA治疗肝硬化性脾亢是安全、有效的, 能显著缓解脾亢、改善肝功能、促进肝脏再生和延缓肝硬化的进程, 同时也能降低食管胃曲张静脉出血的风险, 具有较好的临床疗效, 由于保留了部分脾实质, 亦保留了部分脾脏免疫功能. 由于脾脏质地脆弱并且周围血管结构复杂, 术中容易出血, 因此精确的射频治疗显得尤为重要. 而LUS定位准确、组织分辨率高等特点恰能解决准确定位的问题, 并且可全程监视治疗过程, 避免周围脏器的损伤. 本文3例脾亢患者在LUS引导下RFA治疗均未出现手术并发症, 术中腹腔镜超声实时监测消融范围, 术后经CT体积测定较符合术前预期.

总之, 腹腔镜超声不仅对腹部病灶具有较高的分辨率与检出率, 而且在机器人辅助腹部手术中可对病灶精确定位, 并且引导手术路径. 具有精确定位、引导并能指导手术方式选择的腹腔镜超声影像技术与高精确性的机器人微创手术系统的结合, 在一定程度上弥补了外科医生在机器人手术系统中触觉减弱或丧失等不足, 提高了机器人腹部微创手术的安全性、合理性和彻底性. 但是, 目前LUS-RAS的应用还处在初步探索阶段, 研究病例较少. 另外手术费用较高也在一定程度上限制了这一系统的使用. 我们相信, 随着腹腔镜超声影像技术辅助机器人腹部微创手术系统的不断成熟, LUS-RAS将会更广泛的应用于临床, LUS也将会成为机器人辅助腹部微创手术中不可或缺的一部分.

4 参考文献

1 Lanfranco AR, Castellanos AE, Desai JP, Meyers WC. Robotic surgery: a current perspective. *Ann Surg* 2004; 239: 14-21 [PMID: 14685095 DOI: 10.1097/01.sla.0000103020.19595.7d]

2 Lee EK, Baack J, Duchene DA. Survey of practicing urologists: robotic versus open radical prostatectomy. *Can J Urol* 2010; 17: 5094-5098 [PMID: 20398448]

3 Rodriguez E, Chitwood WR. Robotics in cardiac surgery. *Scand J Surg* 2009; 98: 120-124 [PMID: 19799049]

4 Roukos DH. The era of robotic surgery for colorectal cancer. *Ann Surg Oncol* 2010; 17: 338-339 [PMID: 19856031 DOI: 10.1245/s10434-009-0715-y]

5 Choi SB, Park JS, Kim JK, Hyung WJ, Kim KS, Yoon DS, Lee WJ, Kim BR. Early experiences of robotic-assisted laparoscopic liver resection. *Yonsei Med J* 2008; 49: 632-638 [PMID: 18729307 DOI: 10.3349/ymj,2008.49.4.632]

6 Lau SH, Lau WY. Current therapy of hilar cholangiocarcinoma. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2012; 11: 12-17 [PMID: 22251465 DOI: 10.1016/S1499-3872(11)60119-7]

7 Pfluke JM, Bowers SP. Laparoscopic intraoperative biliary ultrasonography: findings during laparoscopic cholecystectomy for acute disease. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 2011; 21: 505-509 [PMID: 21675861 DOI: 10.1089/lap.2010.0280]

8 田虎, 刘竞芳. 腹腔镜超声在困难腹腔镜胆囊切除术中的应用. 腹腔镜外科杂志 2010; 15: 207-209

9 Hansler J, Wissniowski TT, Schuppan D, Witte A, Bernatik T, Hahn EG, Strobel D. Activation and dramatically increased cytolytic activity of tumor specific T lymphocytes after radio-frequency ablation in patients with hepatocellular carcinoma and colorectal liver metastases. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 3716-3721 [PMID: 16773688]

10 Våpenstad C, Rethy A, Langø T, Selbekk T, Ystgaard B, Hernes TA, Mårvik R. Laparoscopic ultrasound: a survey of its current and future use, requirements, and integration with navigation technology. *Surg Endosc* 2010; 24: 2944-2953 [PMID: 20526622 DOI: 10.1007/s00464-010-1135-6]

11 Santambrogio R, Opocher E, Ceretti AP, Barabino M, Costa M, Leone S, Montorsi M. Impact of intraoperative ultrasonography in laparoscopic liver surgery. *Surg Endosc* 2007; 21: 181-188 [PMID: 17122984 DOI: 10.1007/s00464-005-0738-9]

12 Kim KH, Yoon YS, Yu CS, Kim TW, Kim HJ, Kim PN, Ha HK, Kim JC. Comparative analysis of radiofrequency ablation and surgical resection for colorectal liver metastases. *J Korean Surg Soc* 2011; 81: 25-34 [PMID: 22066097 DOI: 10.4174/jkss.2011.81.1.25]

13 Lee SD, Han HS, Cho JY, Yoon YS, Hwang DW, Jung K, Yoon CJ, Kwon Y, Kim JH. Safety and efficacy of laparoscopic radiofrequency ablation for hepatic malignancies. *J Korean Surg Soc* 2012; 83: 36-42 [PMID: 22792532 DOI: 10.4174/jkss.2012.83.1.36]

14 孙建, 侯宝华, 简志祥, 区应亮, 区金锐.腹腔镜超声判断胰腺癌可切除性的临床价值. 南方医科大学学报 2007; 27: 1117-1118

15 刘全达, 周宁新. 脾脏射频消融术治疗肝硬化性脾功能亢进. 临床肝胆病杂志 2011; 27: 119-122

编辑 李军亮 电编 鲁亚静

■同行评价

本文设计合理, 科学性较强, 文笔流畅, 可读性好, 研究结果对临床工作具有很好的指导意义. 为今后进一步拓展机器人手术的应用范围、提高疗效, 进行了有益的技术探索.

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2013年4月18日; 21(11): 1050-1054
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

肿瘤患者化疗时乙型肝炎病毒的再激活及核苷类药物的预防作用

刘 瑶, 孔心涓, 姜英俊, 武 军, 李新华, 田字彬

■背景资料
越来越多的感染乙型肝炎病毒(HBV)的恶性肿瘤患者需要接受化疗, 化疗可致HBV再激活, 致化疗延迟、严重者导致暴发性肝炎. 如何预防及治疗HBV再激活是临床医生需要特别关注的问题.

刘瑶, 孔心涓, 武军, 李新华, 田字彬, 青岛大学医学院附属医院消化科 山东省青岛市 266003
姜英俊, 青岛大学医学院附属医院急诊普外科 山东省青岛市 266003
刘瑶, 在读硕士, 主要从事肝脏疾病的研究.
作者贡献分布: 刘瑶与孔心涓对此文所作贡献均等; 此课题由刘瑶、孔心涓及田字彬设计; 病例及数据收集由刘瑶、武军及李新华操作完成; 数据分析由刘瑶、孔心涓及姜英俊操作完成; 论文写作由刘瑶与孔心涓完成.
通讯作者: 孔心涓, 副主任医师, 266003, 山东省青岛市江苏路16号, 青岛大学医学院附属医院消化内科.
kongxinjuan2003@163.com
电话: 0532-82911304
收稿日期: 2013-03-10 修回日期: 2013-03-20
接受日期: 2013-03-29 在线出版日期: 2013-04-18

Reactivation of hepatitis B virus and antiviral treatment in cancer patients receiving chemotherapy

Yao Liu, Xin-Juan Kong, Ying-Jun Jiang, Jun Wu, Xin-Hua Li, Zi-Bin Tian

Yao Liu, Xin-Juan Kong, Jun Wu, Xin-Hua Li, Zi-Bin Tian, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Medical College of Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong Province, China
Ying-Jun Jiang, Department of General Surgery, the Affiliated Hospital of Medical College of Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong Province, China
Correspondence to: Xin-Juan Kong, Associated Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Medical College of Qingdao University, 16 Jiangsu Road, Qingdao 266003, Shandong Province, China. kongxinjuan2003@163.com
Received: 2013-03-10 Revised: 2013-03-20
Accepted: 2013-03-29 Published online: 2013-04-18

Abstract

AIM: To investigate the reactivation of hepatitis B virus (HBV) and the effect of antiviral treatment in cancer patients receiving chemotherapy.

METHODS: Clinical data for 2 253 cancer patients undergoing chemotherapy were reviewed. Of 125 patients who were positive for HBV surface antigen, 37 received antiviral treatment (therapy group) and 88 did not (control group). These patients were followed for at least 6 mo after the completion of treatment. During the course of chemotherapy, liver function tests, viral load (HBV-DNA), and HBV reactivation rate were determined on days 1 and 10 of each cycle.

RESULTS: A total of 879 (39.0%) cancer patients were screened for HBV status. In 125 patients who were positive for HBV surface antigen, 47 (37.6%) developed hepatitis during chemotherapy. Of these 47 patients, 7 (18.9%) were included in the antiviral treatment group and 40 (45.5%) in the control group (P = 0.008). Two patients in the antiviral treatment group developed severe hepatitis [2 (5.4%) *vs* 19 (21.6%), P = 0.035]. In the antiviral treatment group, there was significantly less patients developing HBV reactivation [1 (2.7%) *vs* 16 (18.2%), P = 0.022] or discontinuing chemotherapy (8.1% *vs* 33.0%, P = 0.003).

CONCLUSION: Prophylactic antiviral treatment significantly reduces the incidence of HBV reactivation in cancer patients undergoing chemotherapy.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Solid tumor; Chemotherapy; HBV reactivation; Antiviral therapy

Liu Y, Kong XJ, Jiang YJ, Wu J, Li XH, Tian ZB. Reactivation of hepatitis B virus and antiviral treatment in cancer patients receiving chemotherapy. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(11): 1050-1054 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1050.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i11.1050

摘要

目的: 探讨HBsAg阳性的恶性肿瘤患者化疗时乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)的再激活及核苷类药物的预防作用.

方法: 分析在我院进行化疗且资料完整的恶性肿瘤患者2 253例, 筛选其中HBsAg阳性且肝功能正常的患者125例, 其中88例仅单独给予化疗(对照组), 37例化疗前1 wk给予核苷类

■同行评议者
林潮双, 副教授, 中山大学附属第三医院感染科

药物治疗(治疗组). 比较两组化疗后HBV再激活、肝炎复发及化疗终止等的差异.

结果: 化疗前879例患者进行了HBV血清学检测(39.0%). 125例HBsAg阳性患者中47例(37.6%)出现肝炎复发, 其中治疗组和对照组分别为7例和40例(18.9% *vs* 45.5%, $P = 0.008$), 重度肝炎在治疗组和对照组分别为2例和19例(5.4% *vs* 21.6%, $P = 0.035$), 轻、中度肝炎两组比较无统计学意义($P>0.05$). 17例(13.6%)患者出现HBV再激活, 治疗组和对照组分别为1例和16例(2.7% *vs* 18.2%, $P = 0.022$). 延迟化疗在治疗组和对照组分别为3例和29例(8.1% *vs* 33.0%, $P = 0.003$).

结论: 预防性的抗病毒治疗能显著降低HBsAg阳性的肿瘤患者化疗时HBV的再激活, 有助于减少化疗延迟.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 实体瘤; 化疗; HBV再激活; 抗病毒治疗

核心提示: 肿瘤患者化疗前应重视筛查乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV), 对感染HBV的患者即使HBV DNA阴性及肝功能正常亦应进行积极的抗病毒治疗.

刘瑶, 孔心涓, 姜英俊, 武军, 李新华, 田宇彬. 肿瘤患者化疗时乙型肝炎病毒的再激活及核苷类药物的预防作用. 世界华人消化杂志 2013; 21(11): 1050-1054 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1050.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i11.1050

0 引言

全世界约有3.5亿乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)携带者, 其中我国HBsAg携带率为7.18%[1]. 随着肿瘤发病率的不断升高以及细胞毒化疗药物的广泛应用, 越来越多的感染HBV的恶性肿瘤患者需要接受化疗. 化疗方案中许多药物可引起肝脏损害, 致HBV再激活及肝炎复燃, 进而推迟化疗, 严重者导致暴发性肝炎, 甚至死亡. 核苷类药物能快速、有效抑制HBV复制, 减轻肝脏炎症, 已广泛用于慢性乙型肝炎及乙型肝炎后肝硬化的抗病毒治疗[2]. 以往的研究主要关注HBV DNA阳性或肝功能异常的肿瘤患者其化疗时HBV的激活, 而本文主要分析合并HBV感染但化疗前肝功能及HBV DNA正常的肿瘤患者化疗中HBV的再激活及抗病毒药物的预防治疗作用.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2009-09/2012-03-31入住青岛大学医学院附属医院肿瘤科进行化疗的恶性肿瘤患者2 253例, 其中879例化疗前进行了HBV血清学检测. 879例患者中肺癌217例, 乳腺癌181例, 消化系肿瘤285例(胃癌104例, 结肠癌97例, 直肠癌84例), 妇科肿瘤196例(子宫颈癌93例, 子宫内膜癌78例, 卵巢癌25例). 筛选HBsAg阳性的患者125例, 均经病理确诊且有明确的化疗指征, 其中肺癌43例、乳腺癌39例、消化系肿瘤34例、妇科肿瘤9例. 上述病例均资料完整, 6 mo内未进行过抗病毒治疗, 无肝肾转移且化疗前肝肾功能均正常, 化疗前患者的HBV DNA值均低于检测上限. 125例患者中男45例, 女80例, 年龄34-69岁, 平均49.0岁±8.4岁. 其中37例在化疗前1 wk接受了抗病毒治疗(治疗组), 88例化疗前及化疗中均未接受抗病毒治疗(对照组). 两组患者在性别、年龄、肿瘤类型、化疗方案等临床基础条件方面无明显差异.

1.2 方法 125例患者均接受至少4个周期的全身静脉化疗, 治疗组患者在化疗前1 wk加用核苷类药物抗病毒治疗, 其中应用拉米夫定15例(100 mg/d), 恩替卡韦13例(0.5 mg/d), 阿德福韦酯9例(10 mg/d). 15例(40.5%)抗病毒治疗持续至化疗结束后1 mo, 16例(43.2%)抗病毒治疗持续至化疗结束后6 mo, 6例(16.2%)化疗结束后6 mo仍继续抗病毒治疗. 每周期化疗开始后第1天及第10天监测血常规、肝肾功等, 患者出现肝功异常时检测HBV DNA. 乙型肝炎复发定义为[3]: 丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)水平≥3 ULN(正常值上限), 或较化疗前绝对值增加>100 U/L; 肝炎的严重程度定义为: 轻度ALT≤2 ULN, 中度2 ULN<ALT<5 ULN, 重度ALT≥5 ULN; HBV再激活[3]: 化疗期间或化疗后立即出现肝炎, 伴有HBV-DNA水平明显升高, 较基线水平升高≥10倍, 或绝对值达10^9 copies/mL以上并排除其他病毒感染; 化疗延迟: 化疗提前终止, 或2次化疗周期间延长>8 d.

统计学处理 应用SPSS19.0统计软件对数据结果进行分析, 定性资料采用χ^2检验或Fisher确切概率法, $P<0.05$有统计学意义.

2 结果

2.1 患者临床资料的基本情况 2 253例恶性瘤患者中879例(39.0%)在化疗前进行了HBV血清学

■研发前沿

以往的研究主要关注HBV DNA阳性或肝功能异常的肿瘤患者化疗时HBV再激活、HBV再激活后如何给予抗病毒治疗. 但化疗前HBV的筛查率如何? HBV DNA阴性或肝功能正常的患者HBV再激活的情况? 如何预防及治疗此类患者? 化疗前1 wk的预防治疗的疗效如何? 诸多问题需要临床论证.

■相关报道
Yun等报道了拉米夫定对感染HBV的乳腺癌患者术后化疗过程中HBV再激活的治疗作用.

表 1 患者基本临床资料 *n*(%)

	治疗组	对照组	*P*值	主要化疗方案
n	37	88		
肺癌	13(35.1)	30(34.1)	0.911	NP, TP
乳腺癌	12(32.4)	27(30.7)	0.847	TA
消化系肿瘤	10(27.0)	24(27.3)	0.978	
胃癌	4(10.8)	9(10.2)		5-Fu+L-OHP
结肠癌	3(8.1)	7(8.0)		FOLFOX
直肠癌	3(8.1)	8(9.1)		FOLFOX
妇科肿瘤	2(5.4)	7(8.0)	0.901	
子宫颈癌	1(2.7)	4(4.5)		TP
子宫内膜癌	1(2.7)	3(3.4)		TP
年龄(岁)				
>40	32(86.5)	71(80.7)	0.437	
性别			0.781	
男	14(37.8)	31(35.2)		
女	23(62.2)	57(64.8)		
HBeAg(+)	8(21.6)	15(17.0)	0.547	

NP: 长春瑞滨+顺铂; TP: 紫杉醇+顺铂; TA: 紫杉醇+阿霉素; FOLFOX: 奥沙利铂+亚叶酸钙+氟尿嘧啶.

检查, 肺癌及乳腺癌的检测率较高, 分别为217例(53.8%)及181例(51.9%). 筛选其中HBsAg阳性患者125例, 37例治疗组患者中, 34例完成制定的化疗方案, 其中1例死亡; 88例对照组患者, 64例完成化疗方案, 其中4例死亡(表1).

2.2 HBV再激活及肝炎复发的比较 17例(13.6%)患者出现HBV再激活, 治疗组和对照组分别为1例(2.7%)和16例(18.2%), 两组比较差异有统计学意义($P = 0.022$). 治疗组7例(18.9%)出现肝炎复发, 其中轻度3例, 中度2例, 重度2例, 对照组40例(45.5%)出现肝炎复发, 其中轻度10例, 中度11例, 重度19例, 肝炎的总发生率两相比存在明显差异($P = 0.008$), 重度肝炎在两组的发病率差异有统计学意义($P = 0.035$), 轻、中度肝炎相比两组无意义($P>0.05$, 表2).

2.3 化疗延迟及死亡率的比较 治疗组3例(8.1%)出现延长化疗, 均为病情进展; 对照组29例(33.0%)出现化疗延长, 16例与HBV再激活有关, 13例疾病进展. 5例患者死亡, 治疗组1例, 对照组4例, 除对照组3例与HBV再激活相关($P = 0.554$), 其余死亡原因均为疾病进展(表2).

3 讨论

自1975年Wands等[4]首先报道淋巴瘤及骨髓增殖性疾病患者化疗中出现肝炎复发以来, 肿瘤患者化疗后HBV再激活日益受到人们的重视. 早期的研究主要集中于淋巴瘤等血液系, HBV再激活率多在20%-53%[5,6]. 近年研究提示除淋巴瘤外许多HBsAg阳性肿瘤患者在化疗中亦可出现HBV再激活[3,7]. 国内外指南均明确建议, 对接受化疗、免疫抑制治疗的患者须接受HBV感染相关检查, 只要HBsAg阳性, 即使HBV DNA阴性、肝功能正常也应在化疗前应用核苷类药物进行预防性的抗病毒治疗, 预防乙肝再发. 有研究显示[8], 1997-2009年, 北美教学医院仅有36.6%的接受利妥昔单抗治疗的患者进行HBV筛查, 然而, 在相关指南公布后, 这一数据迅速上升至67.4%. 本研究显示接受化疗的肿瘤患者HBV血清学筛查率仍然较低(39.0%), 肺癌(53.8%)及乳腺癌(51.9%)的检测率较高, 提示应重视多学科之间的交流, 肿瘤科医生应进一步了解肿瘤患者化疗前的HBV筛查的必要性及重要性[9], 所有肿瘤患者化疗前均应接受HBV感染筛查, 制订合理的抗病毒治疗方案, 降低肝炎复发率.

HBV再激活可引起肝功能受损, 表现为不同程度的肝炎, 有些患者HBV激活可引起肝衰竭, 甚至死亡[10]. 目前认为HBV再激活主要相关危险因素有: (1)HBV的携带状态, 研究表明HBsAg、HBeAb、HBcAb阳性患者更易发生HBV再激活[5], 高水平的HBV DNA表达是HBV再激活的危险因素[11]. 最近, 有研究表明, HBV

表 2 化疗后两组资料比较 *n*(%)

分组	*n*	HBV再激活	肝炎				化疗延迟	乙型肝炎相关死亡
			总发生	轻度	中度	重度		
治疗组	37	1(2.7)	7(18.9)	3(8.1)	2(5.4)	2(5.4)	3(8.1)	0(0)
对照组	88	16(18.2)	40(45.5)	10(11.4)	11(12.5)	19(21.6)	29(33.0)	3(3.4)
*P*值		0.022	0.008	0.754	0.342	0.035	0.003	0.554

■创新盘点

本文重点研究了抗病毒药物对化疗前HBV DNA阴性及肝功能正常的肿瘤患者的HBV再激活的预防治疗作用.

的基因型及转换亦是HBV再激活的危险因素[12,13]; (2)某些药物如免疫抑制剂、糖皮质激素、蒽环类药物的使用, 使HBV再激活的概率增加[14,15], 还与肿瘤类型、男性、年龄、治疗强度等因素有关[3]. 本研究中HBsAg阳性的肿瘤患者17例(13.6%)出现HBV再激活, 较以往研究偏低, 因考虑以往大量研究均表明感染HBV的淋巴瘤患者HBV再激活率明显高于其他肿瘤, 故本次试验未将淋巴瘤纳入本研究范围. 同时以往的研究集中于化疗前HBV DNA阳性的肿瘤患者, 我们的研究关注化疗前肝功能及HBV DNA正常的肿瘤患者, HBV再激活率较以往研究偏低, 考虑亦与此有关. 化疗前应用抗病毒药物可明显降低HBV再激活, 与以往研究相符[16,17]. 本研究中对照组40例(45.5%)患者出现肝炎复发, 治疗组仅7例(18.9%), 且抗病毒药物能显著降低重度肝炎的发生(P = 0.008). 因并非所有HBV再激活均出现肝炎, 肝炎的出现也并非均由HBV再激活引起, 化疗药物本身亦可损害肝脏细胞, 故轻度及中度肝炎两组发生率未见明显异常. 而重度肝炎多与HBV再激活有关, 抗病毒治疗可以明显抑制HBV复制, 所以可明显降低因HBV再激活引起的重度肝炎. 化疗后HBV的再激活及肝炎复发与HBV的携带状态相关, 但本研究未进一步评估仅HBcAb阳性的肿瘤患者化疗后HBV再激活及肝炎复发情况, 也未分析化疗药物是否与HBV再激活及肝炎复发相关, 以上内容仍需大规模的临床论证.

预防性应用抗病毒药物可以减少患者出现延迟化疗的概率, 使患者不至因肝功能受损而延长或终止化疗, 化疗的延长或终止可能引起疾病进展, 影响患者预后. 本研究治疗组3例(8.1%)出现延长化疗, 与HBV激活无关, 而对照组29例(33.0%)出现化疗延长, 其中16例与HBV再激活有关. 目前, 能有效抗病毒的药物有干扰素及核苷(酸)类似物, 研究显示核苷(酸)类似物如拉米夫定、恩替卡韦可有效抑制HBV的激活, 并对肿瘤患者有较高的安全性, 因此作为抗HBV再激活的一线用药[18,19]. 我们研究提示化疗前1 wk预防性的抗病毒治疗可有效降低HBV再激活及肝炎复发, 但早期预防性应用抗病毒药物为HBV感染的肿瘤患者带来益处的同时, 何时停药的问题倍受关注. 美国肝病协会在《慢性乙型肝炎临床实践指南》中推荐, 预防性应用抗病毒治疗在接受肿瘤化疗或有限疗程的免疫抑制剂治疗时维持到完成治疗后6 mo[20]. 本研究中15例(40.5%)抗病毒治疗持续至化疗结束后1 mo, 16例(43.2%)抗病毒治疗持续至化疗结束后6 mo, 6例(16.2%)化疗结束后6 mo仍继续抗病毒治疗, 提示临床医生应重视并规范感染HBV肿瘤患者的抗病毒疗程. 但随着抗病毒药物的长期应用, 耐药率也逐年增加, 且有研究显示, 患者预防性应用抗病毒药物, 停止治疗后有部分患者会发生停药激活[21]. 本研究未对化疗停止后进行长期随访, 无法得知是否存在耐药激活和停药激活, 上述问题需进一步探讨.

4 参考文献

1 庄辉. 加强乙型肝炎防治. 北京大学学报(医学版) 2009; 41: 259-262 [DOI: 10. 3969/.j issn. 1671-167X]

2 Hoofnagle JH, Doo E, Liang TJ, Fleischer R, Lok AS. Management of hepatitis B: summary of a clinical research workshop. *Hepatology* 2007; 45: 1056-1075 [PMID: 17393513 DOI: 10.1002/hep.21627]

3 Yeo W, Chan PK, Zhong S, Ho WM, Steinberg JL, Tam JS, Hui P, Leung NW, Zee B, Johnson PJ. Frequency of hepatitis B virus reactivation in cancer patients undergoing cytotoxic chemotherapy: a prospective study of 626 patients with identification of risk factors. *J Med Virol* 2000; 62: 299-307 [PMID: 11055239 DOI: 10.1002/1096-9071(200011)62]

4 Wands JR, Chura CM, Roll FJ, Maddrey WC. Serial studies of hepatitis-associated antigen and antibody in patients receiving antitumor chemotherapy for myeloproliferative and lymphoproliferative disorders. *Gastroenterology* 1975; 68: 105-112 [PMID: 1054319]

5 Cil T, Altintas A, Pasa S, Bayan K, Ozekinci T, Isikdogan A. Lamivudine for the prevention of hepatitis B virus reactivation in hepatitis-B surface antigen (HBSAG) seropositive cancer patients undergoing cytotoxic chemotherapy. *Leuk Lymphoma* 2008; 49: 939-947 [PMID: 18464113 DOI: 10.1080/10428190801975568]

■同行评价
本文选题具有一定创新性, 并具有一定临床意义.

6 Huang YW, Chung RT. Management of hepatitis B reactivation in patients receiving cancer chemotherapy. *Therap Adv Gastroenterol* 2012; 5: 359-370 [PMID: 22973419 DOI: 10.1177/1756283X12450245]
7 Roche B, Samuel D. The difficulties of managing severe hepatitis B virus reactivation. *Liver Int* 2011; 31 Suppl 1: 104-110 [PMID: 21205146 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2010.02396.x]
8 Méndez-Navarro J, Corey KE, Zheng H, Barlow LL, Jang JY, Lin W, Zhao H, Shao RX, McAfee SL, Chung RT. Hepatitis B screening, prophylaxis and re-activation in the era of rituximab-based chemotherapy. *Liver Int* 2011; 31: 330-339 [PMID: 20738779 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2010.02332.x]
9 黄利华, 姚悦萍. HBV感染者化疗时的抗病毒治疗. 世界华人消化杂志 2011; 19: 1604-1608
10 Manzano-Alonso ML, Castellano-Tortajada G. Reactivation of hepatitis B virus infection after cytotoxic chemotherapy or immunosuppressive therapy. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 1531-1537 [PMID: 21472116 DOI: 10.3748/wjg.v17.i12.]
11 Jang JW, Kwon JH, You CR, Kim JD, Woo HY, Bae SH, Choi JY, Yoon SK, Chung KW. Risk of HBV reactivation according to viral status and treatment intensity in patients with hepatocellular carcinoma. *Antivir Ther* 2011; 16: 969-977 [PMID: 22024512 DOI: 10.3851/IMP1840]
12 Sugauchi F, Tanaka Y, Kusumoto S, Matsuura K, Sugiyama M, Kurbanov F, Ueda R, Mizokami M. Virological and clinical characteristics on reactivation of occult hepatitis B in patients with hematological malignancy. *J Med Virol* 2011; 83: 412-418 [PMID: 21264861 DOI: 10.1002/jmv.21995]
13 Kim IK, Kim BG, Kim W, Kim D, Kim YJ, Yoon JH, Lee HS. Clinical prediction of failure of Lamivudine prophylaxis for hepatitis B virus-infected patients undergoing cytotoxic chemotherapy for malignancy. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56: 5511-5519 [PMID: 22890764 DOI: 10.1128/AAC.00821-12]
14 Koo YX, Tan DS, Tan BH, Quek R, Tao M, Lim ST. Risk of hepatitis B virus reactivation in patients who are hepatitis B surface antigen negative/antibody to hepatitis B core antigen positive and the role of routine antiviral prophylaxis. *J Clin Oncol* 2009; 27: 2570-2571; author reply 2570-2571 [PMID: 19364951 DOI: 10.1200/JCO.2009.21.9352]
15 Evens AM, Jovanovic BD, Su YC, Raisch DW, Ganger D, Belknap SM, Dai MS, Chiu BC, Fintel B, Cheng Y, Chuang SS, Lee MY, Chen TY, Lin SF, Kuo CY. Rituximab-associated hepatitis B virus (HBV) reactivation in lymphoproliferative diseases: meta-analysis and examination of FDA safety reports. *Ann Oncol* 2011; 22: 1170-1180 [PMID: 21115603 DOI: 10.1093/annonc/mdq583]
16 Ziakas PD, Karsaliakos P, Mylonakis E. Effect of prophylactic lamivudine for chemotherapy-associated hepatitis B reactivation in lymphoma: a meta-analysis of published clinical trials and a decision tree addressing prolonged prophylaxis and maintenance. *Haematologica* 2009; 94: 998-1005 [PMID: 19454492 DOI: 10.3324/haematol.2009.005819]
17 Long M, Jia W, Li S, Jin L, Wu J, Rao N, Feng H, Chen K, Deng H, Liu F, Su F, Song E. A single-center, prospective and randomized controlled study: Can the prophylactic use of lamivudine prevent hepatitis B virus reactivation in hepatitis B s-antigen seropositive breast cancer patients during chemotherapy? *Breast Cancer Res Treat* 2011; 127: 705-712 [PMID: 21445574 DOI: 10.1007/s10549-011-1455-9]
18 李岩, 阚志超, 韩涛. 拉米夫定联合TACE治疗原发性肝癌合并肝硬化30例. 世界华人消化杂志 2008; 16: 1700-1703
19 Jin YJ, Shim JH, Lee HC, Yoo DJ, Kim KM, Lim YS, Suh DJ. Suppressive effects of entecavir on hepatitis B virus and hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26: 1380-1388 [PMID: 21884247 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06776.x]
20 陈杰, 贾继东. 2007年美国肝病学会慢性乙型肝炎防治指南推荐意见介绍. 临床肝胆病杂志 2007; 23: 83-87
21 Mimura N, Tsujimura H, Ise M, Sakai C, Kojima H, Fukai K, Yokosuka O, Takagi T, Kumagai K. [Hepatitis B virus reactivation after cessation of prophylactic lamivudine therapy in B-cell lymphoma patients treated with rituximab combined CHOP therapy]. *Rinsho Ketsueki* 2009; 50: 1715-1719 [PMID: 20068280]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2013年4月18日; 21(11): Ⅰ-Ⅴ
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《世界华人消化杂志》投稿须知

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊.

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569)》是一份同行评议和开放获取期刊(Open Access Journal, OAJ), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版. 《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区.

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病学, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章. 最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病学实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平.

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group, BPG)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上. OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊. 论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本. BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑.目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平.

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录. 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号. 《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊.

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

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals). 见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47.

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称. 医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文. 公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录.

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等. 为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上. 中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤). 通常应小写.

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

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量. 如 30 kD改为M_r 30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即A_r(A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体). 计量单位在+、－及-后列出. 在±前后均要列出, 如37.6 ℃±1.2 ℃, 45.6岁±24岁, 56.4 d±0.5 d. 3.56±0.27 pg/ml应为3.56 ng/L±0.27 ng/L. BP用kPa(mmHg), RBC数用1×10^{12}/L, WBC数用1×10^{9}/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. M_r明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm×6 cm×4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO_2结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1×10^{-3} g与5×10^{-7} g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg•d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO_2, 50 mL/L CO_2; 1∶1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45×10^{-6}; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示.

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ^2; (4)样本的

相关系数用英文小写r; (5)自由度用希文小写υ; (6)样本数用英文小写n; (7)概率用英文斜体大写P. 在统计学处理中在文字叙述时平均数±标准差表示为mean±SD, 平均数±标准误为mean±SE. 统计学显著性用$^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套P值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第三套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L±0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6 347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的mean±SD应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g±420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg±0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm±0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48→23.5→24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母≤100, 百分数到个位; 101≤分母≤1 000, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名，按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wcjd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版.

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致.

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号. 格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”.

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码. 例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致.

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象. 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度. 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征. 如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准. 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写*P*, 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值).

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 正文内序号连排用(1), (2), (3). 以下逐条陈述.

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系.

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可.

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论.

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾.

图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …. 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: $^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第3套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$. *P*值后注明何种检验及其具体数字, 如$P<0.01$, $t = 4.56$ *vs* 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用*t*/min, *c*/(mol/L), *p*/kPa, *V*/mL, *t*/℃表达.

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上

角注码号. 如马连生[1]报告……, 潘伯荣等[2-5]认为……; PCR方法敏感性高[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部),书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp

4.2 研究原著写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp

4.3 焦点论坛写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp

4.4 文献综述写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp

4.5 研究快报写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp

4.6 临床经验写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcjy.asp

4.7 病例报告写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx. 无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投稿须知下载网址http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf. 审稿过程平均时间需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审.

6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删节时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有.

《世界华人消化杂志》编辑部
北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号
远洋国际中心D座903室
电话: 010-5908-0035
传真: 010-8538-1893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http: //www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、**作者和读者**利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化**方向迈进**.

世界华人消化杂志 2013年4月18日; 21(11): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26
美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会
会议地点: 美国旧金山
联系方式: www.gicasym.org

2013-02-10/15
2013年肠道微生物组: 免疫网络效应/法规Keystone Symposia会议
会议地点: 美国
联系方式: info@keystonesymposia.org

2013-02-09/12
美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周(CNW 2013)
会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城
联系方式: http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508

2013-02-22/23
国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会
会议地点: 美国休斯顿
联系方式: http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1]

2013-02-22/23
迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议
会议地点: 美国
联系方式: cme.med.miami.edu/x88.xml

2013-03-01/31
2013年北京第七届疝和腹壁外科国际学术研讨会
会议地点: 北京市
联系方式: zhshfbwkzz@yahoo.com.cn

2013-03-01/04
2013加拿大消化疾病周(CDDW)
会议地点: 加拿大
联系方式: www.cag-acg.org/cddw

2013-03-07/10
亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议
会议地点: 新加坡
联系方式: www.apaslconference.org

2013-03-15/17
2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛
会议地点: 深圳市
联系方式: ewancool@hotmail.com

2013-03-14/16
中部外科学会(CSA)2013年会
会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛
联系方式: http://www.centralsurg.org/meeting/futuremtgs.html

2013-04-12/14
2013中国肛肠创新论坛(CICS)
会议地点: 北京市
联系方式: www.crdinnovation.com

2013-04-19/23
2013第2届国际肿瘤学论坛
会议地点: 瑞士
联系方式: cihexpo@163.com

2013-05-23/25
2013第六届世界癌症大会
会议地点: 西安市
联系方式: bithuiyi@163.com

2013-05-20/22
2013年第三届内分泌与代谢大会
会议地点: 西安市
联系方式: nancy@bitconferences.cn

2013-05-31/06-04
2013美国临床肿瘤协会年会
会议地点: 美国芝加哥
联系方式: yangxinxue999@163.com

2013-06-07/09
中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤营养与支持治疗学术会议
会议地点: 武汉市
联系方式: csonsc@VIP.163.com

2013-06-21/23
中国消化科学术论坛
会议地点: 张家界市
联系方式: casgmail@126.com

2013-07-13/14
中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会
会议地点: 银川市
联系方式: lilyjia@163.com

2014-09-26/30
第39届欧洲临床肿瘤学会年会
会议地点: 西班牙
联系方式: http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html

2013-10-18/20
第二十二届亚太抗癌大会
会议地点: 天津市
联系方式: secretariat@apcc2013.com

世界华人消化杂志 2013年4月18日; 21(11): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

曹志成 院士
香港特别行政区, 香港伊丽莎白医院临床肿瘤部、肿瘤科研部

陈其奎 教授
中山大学附属第二医院消化内科

陈治水 主任医师
中国人民解放军第211医院中医科

程英升 教授
同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心

杜雅菊 教授
哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科

姜春萌 教授
大连医科大学附属第二医院消化科

金瑞 教授
首都医科大学附属北京佑安医院消化科

黎乐群 教授
广西医科大学附属肿瘤医院

刘冰熔 教授
哈尔滨医科大学附属第二临床医院消化内科

刘凤斌 教授
广州中医药大学第一附属医院消化内科

刘海峰 主任医师
北京市武警总医院消化科

吕宾 教授
浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)

任建林 教授
厦门大学附属中山医院消化内科

沈克平 主任医师
上海中医药大学附属龙华医院

沈薇 教授
重庆医科大学附属第二医院消化内科

孙明军 教授
中国医科大学附属第一医院内镜中心

田文静 副教授
哈尔滨医科大学

谭德明 教授
中南大学湘雅医院感染病科

汪波 主任医师
北京大学第一医院急诊科

王鲁平 主任医师
中国人民解放军北京军区总医院病理科

王志刚 副主任医师
上海市第六人民医院普外科

夏冰 教授
武汉大学中南医院消化内科/消化系病研究中心

谢敏 主任医师,
南京大学医学院附属鼓楼医院普外科

徐辉雄 教授
同济大学附属第十人民医院暨上海市第十人民医院超声科

杨柏霖 副主任医师
南京中医药大学附属医院

杨桦 教授
重庆市第三军医大学新桥医院

姚登福 教授
南通大学附属医院

张春虎 副教授
中南大学湘雅医院中西医结合研究所

张小晋 主任医师
北京积水潭医院

张筱茵 副教授
中国人民解放军第四军医大学西京医院消化疾病研究所

世界华人消化杂志
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《**世界华人消化杂志**》入编《中文核心期刊要目总览》2011 年版（即第六版）之 **临床医学/特种医学类** 的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了 73 个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN 号、CN 号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被索量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web 下载量等 9 个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到 60 余种，统计到的文献数量共计 221177 余万篇次，涉及期刊 14400 余种。参加核心期刊评审的学科专家达 8200 多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出 1982 种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂

撰安

《中文核心期刊要目总览》2011 年版编委会

代章：

2012 年 1 月



百世登

Baishideng®

Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,
315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com



 © 2013 Baishideng. All rights reserved.

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

世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2013 年 4 月 28 日　第 21 卷　第 12 期　(Volume 21 Number 12)



12/2013

ISSN 1009-3079

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

世界华人消化杂志　www.wjgnet.com　二零一三年四月二十八日　第二十一卷　第十二期

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31
wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

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

总顾问

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

名誉主编

潘伯荣教授

主编

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

编委

消化内科学

白爱平副教授
白岚教授
卜平教授
陈国忠主任医师
陈洪副教授
陈其奎教授
陈卫昌教授
陈贻胜教授
程斌教授
迟宝荣教授
崔立红教授
邓鑫教授
丁士刚教授
董蕾教授
杜雅菊主任医师
杜奕奇副教授
樊冬梅副主任医师
樊晓明教授
房静远教授
冯志杰主任医师
傅春彬主任医师
甘华田教授
高凌副教授
戈之铮教授
关玉盘教授
关晓辉主任医师
郭晓钟教授
郝建宇教授
郝丽萍副教授
何继满教授
何松教授
洪天配教授
黄培林教授
黄晓东主任医师
黄颖秋教授
黄缘教授
季国忠教授
江米足教授
姜春萌教授
姜慧卿教授
姜相君主任医师
金瑞教授
蓝宇教授
李淑德教授
李瑜元教授
李玉民教授
廖家智副主任医师
林志辉教授
刘冰熔教授
刘凤斌教授
刘改芳主任医师
刘海峰主任医师
刘海林主任医师
刘亮明副教授
陆伦根教授
马红主任医师
马欣主任医师
毛恩强教授
毛高平教授
孟庆华教授
缪应雷主任医师
倪润洲教授
欧希龙副教授
潘秀珍教授
潘阳林副教授
朴云峰教授
秦成勇教授
任粉玉教授
任建林教授
邵先玉教授
沈琳主任医师
沈薇教授
施瑞华教授
宋军副教授
唐世刚教授
田宇彬教授
度必光教授
宛新建副教授
王邦茂教授
王炳元教授
王承党教授
王江滨教授
王俊平教授
王蔚虹教授
王晓艳副教授
夏冰教授
夏时海副教授
徐灿霞教授
徐可树教授
杨建民教授
张国主任医师
姚树坤教授
张国梁主任医师
张军教授
张庆瑜教授
张小晋主任医师
张筱茵副教授
张志坚教授
郑培永教授
郑鹏远教授
郑素军副主任医师
郑勇教授
周国雄主任医师
周宇教授
邹晓平主任医师
诸琦教授
于珮主任医师

消化外科学

白雪副主任医师
白雪巍副主任医师
白玉作教授
蔡开琳副教授
蔡三军主任医师
曹杰主任医师
陈炳官教授
陈光教授
陈海龙教授
陈积圣教授
陈进宏副主任医师
陈凛教授
陈汝福教授
陈亚军主任医师
陈钟教授
程爱国教授
程树群副教授
崔云甫教授
戴朝六教授
戴冬秋教授
丁义涛教授
杜顺达副教授
房林教授
傅红副教授
傅华群教授
傅思源副教授
傅晓辉副教授
傅志仁主任医师
高毅主任医师
葛海燕教授
巩鹏副教授
谷俊朝主任医师
顾国利副主任医师
顾岩教授
韩天权教授
郝纯毅主任医师
郝立强副教授
何超教授
何向辉教授
何晓顺教授
何裕隆教授
胡安斌副教授
黄志勇教授
季加孚教授
英卫东教授
姜波健教授
金山主任医师
康春博副主任医师
孔静副教授
黎乐群教授
李革副教授
李国威教授
李华副教授
李华山主任医师
李升平教授
李胜研究员
李涛副主任医师
李文岗教授
李小荣教授
李旭副教授
李永翔教授
李正荣副教授
李志霞教授
李宗芳教授
梁力建教授
刘宝林教授
刘超教授
刘宏鸣副教授
刘建教授
刘亮副主任医师
刘颖斌主任医师
卢军华教授
陆云飞教授
禄韶英副教授
吕凌副教授
吕云福教授
麻勇副研究员
齐清会教授
秦春宏副主任医师
秦华东教授
秦环龙教授
秦建民主任医师
邱伟华主任医师
仇毓东教授
崔清波副教授
单云峰副主任医师
沈柏用副教授
施宝民教授
施诚仁教授
施晓雷副主任医师
石毓君副研究员
宋新明教授
宋振顺教授
孙诚谊教授
孙文兵教授
孙星副教授
孙学英教授
邰升副教授
谭晓冬教授
汤朝晖副主任医师
汤绍涛教授
唐南洪教授

世界华人消化杂志®

编辑委员会

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

消化感染病学

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

消化中医药学

陈治水主任医师
杜群副研究员
扈晓宇主任医师
黄恒青主任医师
李军祥教授
李康副教授
李晓波教授
李勇副教授
李振华教授
刘成海研究员
刘绍能主任医师
鲁玉辉副教授
南极星教授
牛英才研究员
谭周进教授
王富春教授
王来友副教授
王笑民主任医师
邢建峰副教授
徐列明教授
许玲教授
徐庆教授
袁红霞研究员
张声生教授

消化肿瘤学

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

消化影像学

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

消化内镜及介入治疗学

郝俊鸣副主任医师
李家平教授
刘杰民副主任医师
茅爱武教授
孙明军教授
万军教授
吴沛宏教授
余日胜主任医师
袁友红副教授
张火俊副教授

消化中西医结合学

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

消化基础研究

曹洁副教授
曹鹏副研究员
陈敬贤教授
陈志龙教授
崔莲花副教授
段义农教授
樊红教授
高国全教授
高英堂研究员
管冬元副教授
郭长江研究员
郭俊明教授
何红伟副研究员
何敏教授
黄昆教授
黄文林教授
黄园教授
洪艳教授
李刚教授
李君文研究员
李孟森教授
李文贵副教授
李焱副研究员
李增山副教授
刘长征副教授
刘克辛教授
刘森副教授
宁钧宇副研究员
彭宗根副研究员
任超世研究员
任浩副教授
任晓峰副教授
邵华副主任药师
沈东炎副教授
沈涛副教授
斯坎德尔·白克力教授
台桂香教授
谭学瑞教授
汤静主管药师
滕旭副教授
田文静副教授
汪思应教授
王钦红教授
王书奎教授
魏继福研究员
文彬研究员
吴道澄教授
吴江锋副教授
吴军研究员
吴俊华副教授
吴志强副教授
夏敏教授
徐健副主任医师
徐宁志研究员
许文燮教授
杨晓明教授
阴赪宏研究员
郁卫东副研究员
喻荣彬教授
曾柱教授
张红教授
张淑坤副研究员
赵平教授
赵铁建教授
周南进研究员
周素芳教授
周晓武副主任医师
朱益民教授
竺亚斌研究员

消化病理学

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

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目　次 ●　2013 年 4 月 28 日　第 21 卷　第 12 期　(总第416期)

述　评

1055 肝移植后肠源性感染的研究进展
穆靖洲, 陈秋宇, 孙春阳, 吴云红, 朱亮

基础研究

1062 沉默干扰*HMGA2*对胃癌细胞Wnt/β-Catenin信号转导通路的影响
姜丹, 赖铭裕, 陈家庄, 韦丽秀

1070 Rac1对胰腺癌增殖的影响及其机制
田锐, 郭兴军, 江建新, 王敏, 石程剑, 徐盟, 彭丰, 李旭, 秦仁义

临床研究

1075 经内镜逆行性胰胆管造影术后胰腺炎的影响因素
袁伟燕, 陆翠华

1080 散发性结直肠癌组织病理学特征及微卫星不稳定状态分析400例
李新霞, 胡晓杰, 吴涛, 胡昌明, 徐炜, 李洪波, 赵彤

文献综述

1090 胃增生性息肉的研究进展
宋美玥, 李娟, 焦宇飞

1096 RNA干扰在胃癌多药耐药中的研究进展
廉超, 谢玉波, 肖强

研究快报

1102 二甲双胍、吡格列酮对非酒精性脂肪性肝病大鼠肝脏CYP2E1表达的影响
赵东强, 张松筠, 于红艳, 马俊骥, 魏红, 刘红, 魏东敏, 康亚星, 周晓映

1109 铁螯合剂DFO对胰腺癌细胞株PANC-1增殖率的影响
赵慧贞, 庞慧芳, 赵秋, 覃华

临床经验

1114 沈阳市成年居民脂肪肝的流行病学调查
林连捷, 曹男, 郑长青, 林艳, 王东旭, 金玉

1120 广西婴儿特发性肝内胆汁淤积*SLC25A13*基因突变的筛查
伍秋频, 王琳琳, 陈秀奇, 唐清, 单庆文, 黄丽, 连淑君, 云翔, 高国鹏, 陈允

1126 温肾方免煎剂联合拉米夫定治疗HBeAg阳性慢性乙型肝炎脾肾阳虚证的疗效时间关系
白松林, 扈晓宇, 余颜

1131 应变率成像对研究肝硬化患者右心室纵向功能的价值
王洁, 顾鹏

1136 悬吊辅助法腹腔镜阑尾切除术42例
郑向欣, 管小青, 吴骥, 顾书成, 吴建强, 陈焰, 张旭旭

1140 巨噬细胞移动抑制因子_*173G/C*基因多态性与炎性肠疾病的Meta分析
谭诗云, 吴鹏波, 张国, 罗和生, 姚文敏

1146 新诊断2型糖尿病患者外周单核细胞ROCK活性与胰岛素抵抗以及胰岛β细胞功能的关系
吴斌, 高倩, 楚晓婧, 张玫, 黄亨建, 李贵星, 王兰兰

病例报告

1152 恶性黑色素瘤胃十二指肠转移1例
许琮, 赵秋, 杨娟, 王渝, 彭思思, 周琦

1156 白塞病合并自发性多发肠穿孔1例
高源, 孙志俭, 张宪祥

附　　录	Ⅰ－Ⅴ　《世界华人消化杂志》投稿须知 Ⅰ　2013年国内国际会议预告
志　　谢	Ⅰ　志谢世界华人消化杂志编委
消　　息	1061　中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 1074　《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 1079　《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 1089　《世界华人消化杂志》修回稿须知 1108　中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 1113　《世界华人消化杂志》出版流程 1119　《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 1130　《世界华人消化杂志》正文要求 1135　百世登出版集团推出12种开放获取生物医学期刊全部被PubMed和PMC收录 1139　《世界华人消化杂志》参考文献要求 1145　《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 1151　《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 1155　《世界华人消化杂志》栏目设置 1158　*WJG*成功通过评审被PMC收录
封面故事	《世界华人消化杂志》编委, 朱亮, 副教授, 副主任医师, 116044, 辽宁省大连市, 大连医科大学生理教研室
本期责任人	编务 马帅; 送审编辑 闫晋利, 鲁亚静; 组版编辑 闫晋利; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 黄新珍; 形式规范审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编辑 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平　题写封面刊名
陈可冀　题写版权刊名
(旬刊)

创　刊 1993-01-15
改　刊 1998-01-25
出　版 2013-04-28
原刊名 新消化病学杂志

期刊名称
世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

主编
程英升, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心
党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科
江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科
刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科
刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科
吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科
马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科
王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科
姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心
张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部
田滢, 主任
《世界华人消化杂志》编辑部
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室
电话: 010-59080035
传真: 010-85381893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

出版
百世登出版集团有限公司
Baishideng Publishing Group Co., Limited
Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

制作
北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室
电话: 010-85381892
传真: 010-85381893

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

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

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

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

定价
每期68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归Baishideng所有

World Chinese Journal of Digestology

April 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 12

EDITORIAL

1055 Current status of research on enterogenic infection following liver transplantation
Mu JZ, Chen QY, Sun CY, Wu YH, Zhu L

BASIC RESEARCH

1062 Effect of *HMGA2* gene silencing on Wnt/β-Catenin signaling pathway in gastric cancer cells
Jiang D, Lai MY, Chen JZ, Wei LX

1070 Role of rac1 in the proliferation of pancreatic carcinoma cells and possible mechanisms involved
Tian R, Guo XJ, Jiang JX, Wang M, Shi CJ, Xu M, Peng F, Li X, Qin RY

CLINICAL RESEARCH

1075 Risk factors for post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis
Yuan WY, Lu CH

1080 Histopathologic features and microsatellite instability of sporadic colorectal carcinoma: An analysis of 400 cases
Li XX, Hu XJ, Wu T, Hu CM, Xu W, Li HB, Zhao T

REVIEW

1090 An overview of current research of gastric hyperplastic polyps
Song MY, Li J, Jiao YF

1096 Role of RNA interference in research of multidrug resistance in gastric cancer
Lian C, Xie YB, Xiao Q

RAPID COMMUNICATION

1102 Metformin and pioglitazone reduce CYP2E1 expression in the liver of rats with nonalcoholic fatty liver disease
Zhao DQ, Zhang SY, Yu HY, Ma JJ, Wei H, Liu H, Wei DM, Kang YX, Zhou XY

1109 Treatment with deferoxamine inhibits the proliferation of PANC-1 cells
Zhao HZ, Pang HF, Zhao Q, Qin H

CLINICAL PRACTICE

1114 An epidemiological survey of prevalence of fatty liver disease in a general adult population in Shenyang
Lin LJ, Cao N, Zheng CQ, Lin Y, Wang DX, Jin Y

1120 Screening of *SLC25A13* gene mutations in infants with idiopathic intrahepatic cholestasis in Guangxi
Wu QP, Wang LL, Chen XQ, Tang Q, Shan QW, Huang L, Lian SJ, Yun X, Gao GP, Chen Y

1126 Wenshenfang without decoction combined with lamivudine for treatment of HBeAg-positive chronic hepatitis B patients with kidney- and spleen-YANG deficiency syndrome: Relationship between duration and effect
Bai SL, Hu XY, Yu Y

1131 Value of strain rate imaging in research of longitudinal function of the right ventricle in patients with liver cirrhosis
Wang J, Gu P

1136 Laparoscopic appendectomy using the hanging and fastening method: An analysis of 42 cases
Zheng XX, Guan XQ, Wu J, Gu SC, Wu JQ, Chen Y, Zhang XX

1140 Association between macrophage migration inhibitory factor _173G/C polymorphism and inflammatory bowel disease: A meta-analysis
Tan SY, Wu PB, Zhang G, Luo HS, Yao WM

1146 Correlation of insulin resistance, pancreatic β-cell function and insulin sensitivity with increased Rho-associated kinase activity in PBMCs in patients with newly diagnosed type 2 diabetes
Wu B, Gao Q, Chu XJ, Zhang M, Huang HJ, Li GX, Wang LL

CASE REPORT

1152 Gastroduodenal metastasis of malignant melanoma: A case report
Xu C, Zhao Q, Yang J, Wang Y, Peng SS, Zhou Q

1156 Behcet's disease with multiple spontaneous intestinal perforations: A case report
Gao Y, Sun ZJ, Zhang XX

APPENDIX	I – V Instructions to authors of *World Chinese Journal of Digestology* I Meeting events calendar in 2013
ACKNOWLEDGMENT	I Acknowledgments to reviewers of *World Chinese Journal of Digestology*
COVER	Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Liang Zhu, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Physiology, Dalian Medical University, 9 Lvshun South Road, Dalian 116044, Liaoning Province, China
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: *Shuai Ma* Review Editor: *Jin-Li Yan, Ya-Jing Lu* Electronic Page Editor: *Jin-Li Yan* English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Editor-in-Charge: *Xin-Zhen Huang* Proof Editor: *Ying Tian* Layout Editor: *Lian-Sheng Ma*

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

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date April 28, 2013

NAME OF JOURNAL
World Chinese Journal of Digestology

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

EDITOR-IN-CHIEF
Ying-Sheng Cheng, Professor, Medical Imaging Center, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China
Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China
Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China
Lian-Xin Liu, Professor, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China
Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China
Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hang-zhou 310006, Zhejiang Province, China
Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China
Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China
Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China
Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

EDITORIAL OFFICE
Ying Tian, Director
World Chinese Journal of Digestology
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-59080035
Fax: +86-10-85381893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

PUBLISHER
Baishideng Publishing Group Co., Limited
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,
315-321 Lockhart Road, Wan Chai,
Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188
E-mail: bpg@baishideng.com
http://www.wjgnet.com

PRODUCTION CENTER
Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu,
Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-85381892
Fax: +86-10-85381893

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

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

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

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2013年4月28日; 21(12): 1055-1061
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

述评 EDITORIAL

肝移植后肠源性感染的研究进展

穆靖洲, 陈秋宇, 孙春阳, 吴云红, 朱 亮

穆靖洲, 陈秋宇, 朱亮, 大连医科大学生理教研室 辽宁省大连市 116044
孙春阳, 大连医科大学基础医学院 辽宁省大连市 116044
吴云红, 大连医科大学公共卫生学院 辽宁省大连市 116044
朱亮, 副教授, 副主任医师, 主要从事器官移植方面的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 30801127
辽宁省教育厅课题基金资助项目, No. 2004F088
作者贡献分布: 穆靖洲与陈秋宇对本文的贡献均等; 穆靖洲、陈秋宇及孙春阳共同完成综述; 吴云红与朱亮负责审校.
通讯作者: 朱亮, 副教授, 副主任医师, 116044, 辽宁省大连市旅顺南路西段9号, 大连医科大学生理教研室.
zhuliang0210@sina.com
收稿日期: 2013-03-05 修回日期: 2013-03-11
接受日期: 2013-04-01 在线出版日期: 2013-04-28

Current status of research on enterogenic infection following liver transplantation

Jing-Zhou Mu, Qiu-Yu Chen, Chun-Yang Sun, Yun-Hong Wu, Liang Zhu

Jing-Zhou Mu, Qiu-Yu Chen, Liang Zhu, Department of Physiology, Dalian Medical University, Dalian 116044, Liaoning Province, China
Chun-Yang Sun, School of Basic Medical Sciences, Dalian Medical University, Dalian 116044, Liaoning Province, China
Yun-Hong Wu, College of Health Administration, Dalian Medical University, Dalian 116044, Liaoning Province, China
Supported by: the National Nature Science Foundation of China, No. 30801127; the Young Scholar Science Fund of Department of Education of Liaoning Province, No. 2004F088
Correspondence to: Liang Zhu, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Physiology, Dalian Medical University, 9 Lvshun South Road, Dalian 116044, Liaoning Province, China. zhuliang0210@sina.com
Received: 2013-03-05 Revised: 2013-03-11
Accepted: 2013-04-01 Published online: 2013-04-28

Abstract

Since the introduction of the Milan criteria in 1996, liver transplantation has become a standard therapy for end-stage liver diseases and hepatocellular carcinoma. In recent years, liver transplantation has developed greatly. Survival rates after liver transplantation have markedly improved as a result of improved operative techniques, use of immunosuppressants, etc. But infection, especially enterogenic infection, is still the most disturbing complication in patients undergoing liver transplantation. This article gives an overview of infection after liver transplantation and focuses on the discussion of enterogenic infection in terms of its pathophysiology, risk factors, outcome, diagnosis and treatment.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Liver transplantation; Infection; Enterogenic infection

Mu JZ, Chen QY, Sun CY, Wu YH, Zhu L. Current status of research on enterogenic infection following liver transplantation. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(12): 1055-1061 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1055.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1055

摘要

从1996年引进米兰标准(Milan criteria, MC)来, 肝移植已经成为了一个标准的治疗终末期肝病和肝细胞癌的方法. 近年来, 肝移植取得了显著的进步. 随着手术方式的改进和免疫抑制剂的应用等, 肝移植后的生存率明显提高. 但肝移植术后感染尤其是肠源性感染仍然是术后治疗过程中最棘手的问题之一. 我们简要的概括了肝移植后感染的一般情况, 针对肠源性感染的病理生理、危险因素、并发症、诊断以及治疗进行了重点论述.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 肝移植; 感染; 肠源性感染

核心提示: 本文对肝移植术后肠源性感染的相关研究进展进行综述, 对肝移植术后预防此类感染的临床和基础研究有一定的借鉴意义.

穆靖洲, 陈秋宇, 孙春阳, 吴云红, 朱亮. 肝移植后肠源性感染的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(12): 1055-1061 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1055.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1055

0 引言

自1963年成功开展第1例肝移植手术以来, 肝脏移植已作为治疗终末期肝病的常规手术[1,2]. 从

■背景资料
肝移植是标准的治疗终末期肝病和肝细胞癌的方法. 近年来, 随着手术方式的改进和免疫抑制剂的应用, 肝移植术也得到了空前的发展. 但肝移植术后的肠源性感染一直是影响肝移植术后存活率的重要因素.

■同行评议者
徐泱, 副主任医师, 上海复旦大学附属中山医院; 何晓顺, 教授, 中山大学附属第一医院

■研发前沿
胰高血糖素样肽-2(glucagon-like peptide-2, GLP-2)等肠上皮特异生长因子, 因其特异性促肠生长的特性和显著改善肠屏障功能的作用, 可为治疗肝移植术后肠源性感染提供了新的可行性方法.

1996年引进米兰标准(Milan criteria, MC)来[3], 肝移植已经成为了一个标准的治疗终末期肝病和肝细胞癌的方法[4,5]. 近年来, 肝移植术得到了空前的发展, 临床肝移植已取得明显进展. 在美国, 每年大约有5 000-6 000例终末期肝病患者(end-stage liver disease, ESLD)接受肝移植[6]. 在我国, 近几年肝移植年完成数量在2 000-2 500例之间[7]. 在过去十年, 肝移植后的生存率有了稳步提高, 1年生存率超过90%, 8年生存率接近70%[8]. 越来越多新型免疫抑制剂的使用, 减少了移植后排斥反应的发生率, 但同时也增加了患者感染和癌症发生的可能[9]. 现有的研究表明: 肝脏移植受体术后最常见的死因是感染. 在Cervera等[10]的研究中, 终末期肝病患者移植术后, 细菌感染的发病率为36%(34例), 真菌感染的发病率为12%(11例)和巨细胞病毒(cytomegalovirus, CMV)感染的发病率为11%(10例), 感染相关性死亡(11例)是死亡(13例)最常见的原因, 占85%. 肝移植术后发生感染易引发全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)甚至原发性移植肝无功能(primary graft non-function, PNF)及多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS). 目前, 肝移植术后的肠源性感染成为阻碍肝移植人群存活率提高的重要因素, 因此防治肝移植术后的肠源性感染有一定的科学研究意义和重要的临床应用价值.

1 肝移植后感染的一般情况

在肝移植患者中, 有将近2/3的患者发生过感染[11]. 在Fishman等[12]的研究中, 肝移植后发生感染的患者中, 细菌感染占50%-60%, 病毒感染和真菌感染分别占20%-40%和5%-15%. 同时, 国内也有相似报道肝移植患者术后并发感染率为65.2%-70.9%[13,14]. 在Pfitzmann等[15]记录了524例原位肝移植术后(orthotopic liver transplantation, OLT)患者的1 049次感染(43.3%是女性, 56.7%是男性), 在治疗的880次感染中, 464次是细菌感染, 有症状的感染642次, 其中, 病毒感染(主要是CMV感染)108次, 真菌感染70次.

对于肝移植术后感染时间来看, 肝移植术后早期(0-9 d)感染率为73.1%. 细菌感染在术后第1个月最常见, 病毒感染多发生在术后的第2、3个月. 感染发生在移植后第1个月内, 与移植前因素和移植后并发症相关, 绝大多数细菌感染在此期. 而在移植后1-6 mo时, 这时病毒感染开始增加, 如CMV的感染或复发, 在移植后6 wk达高峰期, 这一时期免疫排斥反应也最强烈. 此时也会发生其他一些病毒的感染, 但EB病毒的感染会晚一些. 肝移植半年后出现感染性疾病较少见, 主要为发生慢性免疫排斥的患者和需要用大剂量免疫抑制药维持患者[12,16].

2 肝移植后肠源性感染

肝脏与肠道同属消化器官, 存在密切的解剖学、生理学关系, 肝脏的功能直接影响肠道功能[17]. 肠道内存在大量的微生物, 健康完整的肠黏膜屏障能防止肠内细菌和毒素进入循环. 肠屏障功能通常用肠黏膜的完整性和通透性两个因素代表. 肠道细菌移位(bacterial translocation, BT)是指肠道细菌突破肠道屏障进入肠系膜淋巴结(mesenteric lymph nodes, MLN)或一些原本无菌的部位. 发生BT有宿主方面的因素如肠壁通透性增加、免疫力下降, 也有细菌方面的因素如菌群失调或过度生长. 健康的机体偶有BT发生, 但进入MLN或血流的细菌会马上被免疫系统清除, 不产生危害. 病理情况下, 胃肠道黏膜屏障功能被破坏, 肠道黏膜通透性增加, 胃肠道菌群微生态异常, 从而发生BT或内毒素血症, 进一步可引起肠源性感染及失控性炎症反应, 导致MODS[18].

2.1 肝移植后肠源性感染的危险因素 最近有证据表明微生物移位(microbial translocation, MT), 不仅肝硬化患者可能会发生, 而且在几个肝脏疾病的早期阶段, 包括酒精性肝病和非酒精性脂肪性肝病中也会发生. 不过机制不同, 如小肠细菌过度生长, 肠黏膜通透性增加, 免疫功能受损, 都可能促进MT的发生[19]. 在肝硬化时, 由于胃肠道淤血、胆汁流异常、免疫功能下降, 存在肠道屏障功能下降、菌群失调现象, 可促发细菌穿过肠壁进入MLN或其他原本无菌的部位而发生BT. 肝癌患者在肝硬化的基础上, 也存在肠黏膜屏障功能障碍, 而这些患者是肝移植的主要对象, 因此易造成术后感染[17,20]. 肝脏移植患者多为肝脏病患终末期, 术前多数患者为多次住院者, 患者往往因为住院时间长而使体内聚集了大量的病原体或者已经发生了某些病原体的隐匿感染. 既往有运用抗生素的经历, 长期使用广谱抗生素导致正常肠道菌群紊乱. 而且, 大多都是长期患者, 多伴有低蛋白血症、营养不良, 这些因素使得患者成为医院感染的易感人群. 术中门静脉、腔静脉阻断, 加速了肠黏

膜缺血、受损. 手术后使用神经贮钙蛋白抑制剂环孢素A及FK506可抑制肠道上皮细胞的ATP的合成, 干扰能量代谢[21], 在减少移植器官排斥反应发生的同时增加了移植受者发生机会感染的危险. 因此, 肝移植术后肠道容易出现组织结构损伤、通透性增加、吸收功能下降, 微生态紊乱, 屏障功能受损, 肠腔内细菌及内毒素移位, 增加术后感染发生的可能[22,23].

前3 mo感染性并发症是肝移植后发病率和死亡率的重要原因, 因为此时是免疫抑制的最高时段. 对于带有慢性肝病的儿童肝移植时应考虑到接受所有有效的预防措施以避免术后感染. 感染的危险因素还包括磷酸酶抑制剂(他克莫西和环孢菌素)、类固醇、移植肝功能不良、重症监护延长、呼吸机依赖、肠穿孔、再次移植以及为治疗急性排斥的抗淋巴抗体的应用[24].

对于感染的危险因素, 研究发现, 感染的主要危险与术前状况、手术因素及免疫反应多种因素有关[25]. 回顾性研究显示术前携带甲氧西林耐药金黄色葡萄球菌者术后易发展为脓毒症, 应视为肝移植高危人群, 是死亡的危险因素[26]. Hellinger等[27]进行了一项有关肝移植手术过程感染和移植物衰竭或患者死亡之间的关系研究, 肝移植外科手术后一年内感染患者的状况, 具体方法是用Cox proportional hazards models: 相关危险因素(risk ratio, RR)来估计95%的可信区间(confidence interval, CI), 来研究危险因素与患者移植物衰竭或患者死亡之间的关系. 结果显示, 研究的370例患者中, 66(18%)例发生了外科手术感染, 57(15%)例死亡或移植后一年内移植物衰竭. 正常情况下供肝质量和受体体质量的比例应>1%, 比例介于1%-3%的生存率为91.8%, 介于0.8%-1.0%的生存率为79.5%, <0.8%的生存率仅为59.7%. 供肝质量和受体体质量的比例<1%(RR = 2.56; 95%CI: 1.17-5.62; P = 0.019), 增加手术时间[RR = 1.19(1-hrincrease); 95%CI = 1.03-1.37; P = 0.018], 这两点都增加了手术感染的风险. 外科手术的感染增加了患者术后一年的移植物衰竭和患者死亡的危险(RR = 3.06; 95%CI: 1.66-5.64; P<0.001). 肝移植术后细菌感染取决于器官缺血时间及是否透析、机械通气. 真菌感染取决于外科手术时间、移植前血浆白蛋白浓度. 侵入性真菌感染取决于输血数量、移植前血浆白蛋白浓度及是否为再次移植. 经过多元分析表明: 输血、透析、静脉营养时间、外科手术时间过长和出现排斥反应均是感染的危险因素[28].

2.2 肝移植后肠源性感染致病菌的种类 有文献记载肝移植的术后细菌感染的主要病原菌为肠球菌、阴沟肠杆菌、大肠杆菌等肠道机会致病菌, 提示BT可能是引起肝移植术后感染的一个重要因素. 术后感染部位、病原菌的分布情况随术后时间的推移而有所差异. 早期感染以革兰氏阴性杆菌为主, 感染易发于呼吸道、腹腔; 随着抗感染治疗的进行, 血液、胆道成为易发部位, 肠球菌、真菌、高产*AmpC*酶与*ESBLs*酶的阴沟肠杆菌等成为感染的主要病原菌, 而这些细菌具有更大的危害性, 与肝移植术后患者的死亡密切相关[29]. Kim等[30]观察了43例儿童患者的74次感染发作, 有42次(57%)发生在肝移植术后1 mo内, 有73次(99%)发生在肝移植术后6 mo内. 在这74次感染中, 41次(55%)为革兰氏阴性菌, 32次(44%)为革兰氏阳性菌, 还有1次(1%)为厌氧菌感染. 而最常见的革兰氏阴性细菌是肠道细菌如肺炎克雷伯氏菌(12次, 16%)、阴沟肠杆菌(7次, 10%)、大肠杆菌(2次, 3%)、弗氏柠檬酸杆菌(2次, 3%)和产气肠杆菌(1次, 1%). 可见, 肝移植术后感染以肠源性感染为主.

2.3 肝移植后肠源性感染的并发症 细菌除能通过肠道移位直接引起感染外, 细菌内毒素也能通过异常的上皮屏障进入血液循环, 在正常情况下, 细菌内毒素可少量吸收入门静脉, 但很快被肝枯否氏细胞清除. 当肠屏障功能受损、肝枯否氏细胞清除能力下降时, 可发生内毒素移位, 引起内毒素血症. 外科手术、创伤、休克等所产生的血流动力学改变, 可导致肠道的低灌注状态, 损害肠道黏膜屏障功能, 进而导致肠腔内常驻菌发生移位进入血液循环, 再侵入组织, 形成所谓内源性感染[31], 而感染之后既发导致的脓毒血症是肝移植失败主要原因, 参照脓毒血症诊断标准,又将感染程度分为SIRS、脓毒血症、严重脓毒血症、脓毒血症休克和MODS 5个阶段[32]. 在脓毒血症治疗中, 约1/3患者体内找不到原发感染灶, 虽经各种抗生素治疗仍不能控制脓毒症发展而发生MODS, 导致死亡. 这类患者和动物模型体内常存在肠道细菌和毒素明显移位, 诱发和促进严重创伤、休克和感染后“二次打击”的发生和发展, 因此, 肠道可能是脓毒血症的感染源, 失控的SIRS是MODS发生、发展的重要病理基础, 而胃肠道可能是促发SIRS失控的重要环节. 许多肝病例如肝硬化造成肠黏

■创新盘点
本文总结了近十年来肝移植术后感染的相关文献, 对肝移植术后感染尤其是肠源性感染从机制、预防、治疗及预后各个方面进行了较为详细完整的阐述.

■名词解释
肠源性感染: 肠道是人体最大的“储菌所”和“内毒素库”. 健康状况下肠黏膜有严密的屏蔽功能. 肠源性感染指当肠黏膜屏蔽功能受损或衰竭时, 肠内致病菌和内毒素可经肠道移位而导致的全身性感染.

膜屏障损害, 使肠道内毒素和细菌进入血液或腹腔导致脓毒血症、内毒素血症和自发性腹膜炎, 使病情进一步加重, 造成恶性循环[20].

2.4 肝移植后肠源性感染的诊断 细菌的鉴定: 首先, 制备革兰氏染色图片去确定他们是否是球菌或杆菌之后确定是革兰氏阳性菌或革兰氏阴性菌; 其次, 通过Vitek-32细菌分析仪进行鉴定. 革兰式阳性球菌用GPI卡检测; 革兰氏阴性杆菌用GNI卡检测; 真菌用YBC卡检测[33].

2.5 肝移植后肠源性感染的防治 肠源性感染作为肝脏移植受体术后死亡的最常见原因之一, 应该成为防治肝移植后肠源性感染的重要指标.

2.5.1 抗生素: 抗生素的常规经验性用药, 目前来说, 仍然是预防术后感染的重要手术之一[34,35]. 对于移植术后细菌感染的防治多选择哌拉西林或环丙沙星加阿莫西林, 如有厌氧菌感染加甲硝唑, 有效率达60%[36]. 术后的第1周来自静脉行的革兰氏阳性菌是导致败血症的重要原因, 术中或者术后应用抗生素预防革兰氏阴性菌导致的败血症并不常见[24]. 即使有抗生素的预防, 术后细菌感染仍然很常见, 而且大量广谱抗生素的使用, 导致了多重耐药菌的出现, 但通常认为: 经验性哌拉西林单一疗法是治疗移植后感染的有效药物[37]. 对于术后严重的肠球菌感染(例如菌血症、心内膜炎)需要联合使用抗生素. 菌血症最常见来源为腹腔内部; 其次为血管内导管. 万古霉素是最重要的治疗药物, 很少出现耐药. 替考拉宁是另外一种糖肽类药物. 这两种药物对耐甲氧西林葡萄球菌和其他革兰氏阳性球菌均有效[38].

2.5.2 营养支持: 将要接受肝切除和肝移植的肝硬化患者, 常常出现营养不良. 围术期给予肠内外营养可以减少肝脏手术的并发症和死亡率[39], 而肝移植术后选择正确的营养支持方式对促进患者尽早康复有着重要的作用. 目前研究较多的营养素有谷氨酰胺、精氨酸、ω-3脂肪酸、核苷和核苷酸、膳食纤维、生长激素等[40].

谷氨酰胺是肠黏膜和淋巴细胞的重要营养物质, 人体内的谷氨酰胺池的耗竭会导致小肠上皮细胞萎缩, 并可能损害肠屏障, 降低机体免疫功能, 促进细菌移位及感染的发生[41]. 谷氨酰胺通过抑制TLR2、4 mRNA的表达, 减轻肠组织的损伤[42]. 患者静脉输注谷氨酰胺双肽, 可以较好地维护术后血浆蛋白水平, 通过维护应激状态下机体免疫功能及维护肠黏膜通透性, 从而减少感染发生率[41].

由肠内营养供给的膳食纤维, 其来源于植物, 是不被小肠中消化酶水解的多糖和极少量木质素的总和. 膳食纤维可使黏液产生, 而黏液是肠道防卫功能的主要成分, 能防止细菌黏附于黏膜上皮细胞而形成菌落. 膳食纤维对结肠黏膜的完整性有显著的保护作用, 其发酵产生的短链脂肪酸尤其是丁酸, 可刺激黏膜细胞的生长与胰液的分泌, 增加结肠的血流量, 也可以帮助缓解术中肠道淤血造成的肠道黏膜损伤[31].

2.5.3 选择性肠道净化: 肠道微生物群落不仅参与营养的消化, 还可以形成一道对抗病原微生物的屏障, 起到局部免疫的作用. 肠道微生物紊乱会导致微生物紊乱, 从而诱发感染[19,43]. 选择性肠道净化(selective intestinal decontamination, SID)是一种预防策略, 即是通过口服不被吸收的肠道抗生素, 选择性地清除肠道中可能致病的需氧的革兰氏阴性菌及酵母菌, 同时保留肠道中厌氧菌的定殖抵抗力, 以达到预防感染的目的[44]. 使用选择性肠道净化可以调整肠道微生物群, 预防肠道增生和细菌易位[19,43]. 在德国败血症和血液感染的相关领域的工作者也建议通过选择性肠道净化来预防机械通气患者的二次感染[45].

2.5.4 胃酸的保持: 胃酸的降低可使胃及十二指肠内的杀菌作用下降, 肠道内细菌过度增生, 从而诱发细菌移位, 引起肠源性感染的发生. Bavishi等[46]和Bajaj等[47]的研究证明, 使用质子泵抑制剂(proton pump inhibitors, PPIs)后, 胃酸减少, 胃内pH值升高, 使细菌在上消化道定殖, 可以引起细菌生长过度和移位, 从而增加肠道细菌感染的发生率. 因此, 在使用胃黏膜保护剂时尽量使用不降低胃酸的保护剂, 如前列腺素E等[48].

2.5.5 益生菌: 益生菌(probiotics)是一类活菌制剂, 一方面促进肠黏膜修复, 维护屏障的完整性, 另一方面参与膜菌群构成坚固的肠生物屏障, 从而抑制腐败菌生长, 减少肠源性内毒素、氨、胺等代谢产物吸收入血. 另外, 益生菌可合成多种营养素, 调节机体营养代谢, 促进胃肠蠕动, 调整胃肠功能, 复活机体免疫机制, 提高机体免疫力等. 现有的一些实验和临床研究表明, 益生菌(主要是乳酸杆菌)可能会减少肠道机会性致病菌的数量和恢复肠道已紊乱的屏障功能, 能够减少肠道壁的渗透性, 减少细菌移位, 这对于预防肝移植后感染极其重要. 对于肝移植后或选择性外科手术后的患者, 在胃肠道上使用不同菌株的益生菌预防, 将使得术后感染率降低3倍[49-51].

2.5.6 肠上皮特异性生长因子: 胰高血糖素样肽-2(glucagon-like peptide-2, GLP-2)是新近发现的肠上皮生长因子, 是胰高血糖素原基因在肠道内分泌L细胞特异表达翻译后处理加工的33氨基酸的多肽, 分子量3 900 kDa, 大量的动物实验和临床研究表明GLP-2能促进正常小肠的生长和病理损伤肠黏膜的修复[52,53], 与以往的多肽类生长因子不同, GLP-2的作用具有肠道特异性, 且促生长作用更强. GLP-2的诸多优点显示了GLP-2良好的临床应用前景, 目前GLP-2治疗溃疡性结肠炎和短肠综合征分别进行了Ⅱ期和Ⅲ期临床实验[54,55]. 我们研究也证明, GLP-2可减轻小肠瘀血-再灌注损伤[56](肝移植过程中无肝期存在的肠道损伤过程).

3 结论

由于使用免疫抑制药物和手术创伤等因素, 感染性疾病仍旧是肝移植术后患者的一种严重并发症, 术后感染仍是导致死亡的主要原因, 肝移植术后的感染是肝移植领域的重点和难点问题. 肝移植术后的感染一般包括细菌、病毒、真菌等. 肝移植术后感染的发生率为47%-80%, 病死率达13%-36%, 以肠源性感染最为常见, 发生率为35%-70%. 如何维护肝移植后肠黏膜组织结构, 促进其结构的恢复, 保护其屏障功能, 降低术后内源性感染的发生率, 进而促进移植肝功能恢复和患者康复, 这对肝移植术后处于免疫抑制状态的患者有着重要的意义, 是目前临床亟待解决的现实问题. GLP-2等肠上皮特异生长因子, 因其特异性促肠生长的特性和显著改善肠屏障功能的作用, 为治疗肝移植术后肠源性感染提供了新的可行的方法.

4 参考文献

1 Levitsky J, Oniscu GC. Meeting report of the International Liver Transplantation Society's 18th annual international congress: Hilton San Francisco Hotel, San Francisco, CA, May 16-19, 2012. *Liver Transpl* 2013; 19: 27-35 [PMID: 23239473 DOI: 10.1002/lt.23562]
2 Forrest EH, Lucey MR. Rescue liver transplantation for severe alcoholic hepatitis: arriving where we started? *Hepatology* 2013; 57: 10-12 [PMID: 22806896 DOI: 10.1002/hep.25952]
3 Mazzaferro V, Regalia E, Doci R, Andreola S, Pulvirenti A, Bozzetti F, Montalto F, Ammatuna M, Morabito A, Gennari L. Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis. *N Engl J Med* 1996; 334: 693-699 [PMID: 8594428]
4 Dienstag JL, Cosimi AB. Liver transplantation--a vision realized. *N Engl J Med* 2012; 367: 1483-1485 [PMID: 22992048 DOI: 10.1056/NEJMp1210159]
5 Forner A, Llovet JM, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet* 2012; 379: 1245-1255 [PMID: 22353262 DOI: 10.1016/S0140-6736(11)61347-0]
6 Alqahtani SA. Update in liver transplantation. *Discov Med* 2012; 14: 133-141 [PMID: 22935210]
7 夏强. 肝移植. 肝脏 2012; 17: 537-541, 586
8 Deitch EA. Gut-origin sepsis: evolution of a concept. *Surgeon* 2012; 10: 350-356 [PMID: 22534256 DOI: 10.1016/j.surge.2012.03.003]
9 Fishman JA. Infection in solid-organ transplant recipients. *N Engl J Med* 2007; 357: 2601-2614 [PMID: 18094380]
10 Cervera C, Balderramo D, Suárez B, Prieto J, Fuster F, Linares L, Fuster J, Moreno A, Lozano F, Navasa M. Donor mannose-binding lectin gene polymorphisms influence the outcome of liver transplantation. *Liver Transpl* 2009; 15: 1217-1224 [PMID: 19790141 DOI: 10.1002/lt.21834]
11 Echániz A, Pita S, Otero A, Suárez F, Gómez M, Guerrero A. [Incidence, risk factors and influence on survival of infectious complications in liver transplantation]. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2003; 21: 224-231 [PMID: 12732111]
12 Fishman JA, Rubin RH. Infection in organ-transplant recipients. *N Engl J Med* 1998; 338: 1741-1751 [PMID: 9624195]
13 周建党, 朱晒红, 郭建军, 陈颖, 成柯. 肝移植术后感染病原菌耐药性分析. 中华器官移植杂志 2005; 26: 455-457
14 沈英皓, 樊嘉, 周俭, 吴志全, 邱双健, 王婷, 黄晓武, 孙健. 原位肝移植术后感染病原菌分布及耐药分析. 复旦学报(医学版) 2007; 34: 683-687
15 Pfitzmann R, Nüssler NC, Hippler-Benscheidt M, Neuhaus R, Neuhaus P. Long-term results after liver transplantation. *Transpl Int* 2008; 21: 234-246 [PMID: 18031464]
16 Paling RW, Moloo SK, Scott JR, McOdimba FA, Logan-Henfrey LL, Murray M, Williams DJ. Susceptibility of N'Dama and Boran cattle to tsetse-transmitted primary and rechallenge infections with a homologous serodeme of Trypanosoma congolense. *Parasite Immunol* 1991; 13: 413-425 [PMID: 1923566 DOI: 10.1055/s-0029-1192058]
17 徐凯进. 肝硬化患者肠道细菌易位的临床研究. 浙江大学, 2006
18 Hashimoto T, Fujita T, Yanagisawa N. [Improvement in hemiballism after transient hypoxia in a case of subthalamic hemorrhage]. *Rinsho Shinkeigaku* 1990; 30: 877-882 [PMID: 2253425 DOI: 10.1016/j.surge.2012.03.003]
19 Pinzone MR, Celesia BM, Di Rosa M, Cacopardo B, Nunnari G. Microbial translocation in chronic liver diseases. *Int J Microbiol* 2012; 2012: 694629 [PMID: 22848224 DOI: 10.1155/2012/694629]
20 罗显荣, 杨俊, 骆丽敏, 李灼亮, 练宏生, 李颖迪. 肠道通透性改变对肝移植感染影响研究. 中华实用诊断与治疗杂志 2010; 24: 574-576
21 朱亮, 李幼生, 黎介寿. 小肠移植的研究进展. 世界华人消化杂志 2007; 15: 3107-3114
22 Swank GM, Deitch EA. Role of the gut in multiple organ failure: bacterial translocation and permeability changes. *World J Surg* 1996; 20: 411-417 [PMID: 8662128]
23 谭远飞, 周杰, 谭永法, 金浩生, 唐浩. 肝移植术后细菌感染的相关因素分析. 南方医科大学学报 2006; 26: 518-520
24 Muiesan P, Vergani D, Mieli-Vergani G. Liver trans-

■同行评价
本文具有较好的创新性, 内容较全面, 对肝移植术后肠源性感染的治疗具有一定的指导作用.

plantation in children. *J Hepatol* 2007; 46: 340-348 [PMID: 17161491]
25 张艳杰, 潘景业, 张启瑜, 廖毅, 王均炉, 虞冠锋. 肝移植术后感染及其相应治疗进展. 国外医药抗生素 2005; 26: 15-18
26 Desai D, Desai N, Nightingale P, Elliott T, Neuberger J. Carriage of methicillin-resistant Staphylococcus aureus is associated with an increased risk of infection after liver transplantation. *Liver Transpl* 2003; 9: 754-759 [PMID: 12827565]
27 Hellinger WC, Crook JE, Heckman MG, Diehl NN, Shalev JA, Zubair AC, Willingham DL, Hewitt WR, Grewal HP, Nguyen JH, Hughes CB. Surgical site infection after liver transplantation: risk factors and association with graft loss or death. *Transplantation* 2009; 87: 1387-1393 [PMID: 19424041 DOI: 10.1097/TP.0b013e3181a25133]
28 杨春华, 何晓顺, 陈娟. 肝移植术后真菌感染危险因素分析. 中华医学杂志 2012; 92: 980-981
29 周建党, 朱晒红, 陈颖, 聂新民, 彭怀燕, 成柯. 肝移植术后细菌性感染的病原学特征. 中南大学学报(医学版) 2005; 30: 430-432
30 Kim JE, Oh SH, Kim KM, Choi BH, Kim DY, Cho HR, Lee YJ, Rhee KW, Park SJ, Lee YJ, Lee SG. Infections after living donor liver transplantation in children. *J Korean Med Sci* 2010; 25: 527-531 [PMID: 20357992 DOI: 10.3346/jkms.2010.25.4.527]
31 鱼晓波. 肝移植术后不同营养方式对肠道细菌易位发生的比较. 国外医学移植与血液净化分册 2004; 2: 21-24
32 An G, Namas RA, Vodovotz Y. Sepsis: from pattern to mechanism and back. *Crit Rev Biomed Eng* 2012; 40: 341-351 [PMID: 23140124]
33 Zheyu C, Lunan Y. Early changes of small intestine function in rats after liver transplantation. *Transplant Proc* 2006; 38: 1564-1568 [PMID: 16797358]
34 Sganga G, Spanu T, Bianco G, Fiori B, Nure E, Pepe G, D'inzeo T, Lirosi MC, Frongillo F, Agnes S. Bacterial bloodstream infections in liver transplantation: etiologic agents and antimicrobial susceptibility profiles. *Transplant Proc* 2012; 44: 1973-1976 [PMID: 22974885 DOI: 10.1016/j.transproceed.2012.06.055]
35 Ikegami T, Shirabe K, Matono R, Yoshizumi T, Soejima Y, Uchiyama H, Kayashima H, Morita K, Maehara Y. Etiologies, risk factors, and outcomes of bacterial pneumonia after living donor liver transplantation. *Liver Transpl* 2012; 18: 1060-1068 [PMID: 22674905 DOI: 10.1002/lt.23483]
36 Philpott-Howard J, Burroughs A, Fisher N, Hastings M, Kibbler C, Mutimer D, Patch D, Rolando N, Wade J, Wendon J, O'Grady J. Piperacillin-tazobactam versus ciprofloxacin plus amoxicillin in the treatment of infective episodes after liver transplantation. *J Antimicrob Chemother* 2003; 52: 993-1000 [PMID: 14585863]
37 Grąt M, Ligocka J, Lewandowski Z, Barski K, Hołówko W, Skalski M, Kornasiewicz O, Usarek P, Zieniewicz K, Młynarczyk G, Krawczyk M. Incidence, pattern and clinical relevance of microbial contamination of preservation fluid in liver transplantation. *Ann Transplant* 2012; 17: 20-28 [PMID: 23018252]
38 Forrest GN, Arnold RS, Gammie JS, Gilliam BL. Single center experience of a vancomycin resistant enterococcal endocarditis cohort. *J Infect* 2011; 63: 420-428 [PMID: 21920382 DOI: 10.1016/j.jinf.2011.08.014]
39 Masuda T, Shirabe K, Yoshiya S, Matono R, Morita K, Hashimoto N, Ikegami T, Yoshizumi T, Baba H, Maehara Y. Nutrition Support and Infections Associated With Hepatic Resection and Liver Transplantation in Patients With Chronic Liver Disease. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2012 Aug 16. *[Epub ahead of print]* [PMID: 22898793]
40 Ferreira LG, Anastácio LR, Correia MI. The impact of nutrition on cirrhotic patients awaiting liver transplantation. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2010; 13: 554-561 [PMID: 20531175 DOI: 10.1097/MCO.0b013e32833b64d2]
41 梁存河, 蒋朱明, 唐伟松, 马恩陵, 王树慧, 张云. 谷氨酰胺对术后病人肠源性细菌移位及预后影响的随机对照研究. 中国临床营养杂志 2001; 9: 147-150
42 荆科, 孙梅. 谷氨酰胺对内毒素血症肠组织TLR2、4表达的影响. 世界华人消化杂志 2007; 15: 3122-3126
43 Greenwood RD. Early descriptions in medicine: obstetrical complications. *Md State Med J* 1976; 25: 53-55 [PMID: 772331]
44 San-Juan R, Aguado JM, Lumbreras C, Fortun J, Len O, Munoz P, Montejo M, Moreno A, Cordero E, Blanes M, Ramos A, Torre-Cisneros J, López-Medrano F, Carratala J, Moreno E. Selective intestinal decontamination with fluoroquinolones for the prevention of early bacterial infections after liver transplantation. *Liver Transpl* 2011; 17: 896-904 [PMID: 21351242 DOI: 10.1002/lt.22284]
45 Kern WV. [Bacteraemia and sepsis]. *Dtsch Med Wochenschr* 2011; 136: 182-185 [PMID: 21271477 DOI: 10.1055/s-0031-1272505]
46 Bavishi C, Dupont HL. Systematic review: the use of proton pump inhibitors and increased susceptibility to enteric infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 34: 1269-1281 [PMID: 21999643 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04874.x]
47 Bajaj JS, Zadvornova Y, Heuman DM, Hafeezullah M, Hoffmann RG, Sanyal AJ, Saeian K. Association of proton pump inhibitor therapy with spontaneous bacterial peritonitis in cirrhotic patients with ascites. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 1130-1134 [PMID: 19337238 DOI: 10.1038/ajg.2009.80]
48 Kell MR, Barry BD, Redmond HP. Systemic inflammatory response syndrome: a new direction? *Ir J Med Sci* 2003; 172: 7-8 [PMID: 12760454]
49 Lata J, Jurankova J, Kopacova M, Vitek P. Probiotics in hepatology. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 2890-2896 [PMID: 21734800 DOI: 10.3748/wjg.v17.i24.2890]
50 Jeppsson B, Mangell P, Thorlacius H. Use of probiotics as prophylaxis for postoperative infections. *Nutrients* 2011; 3: 604-612 [PMID: 22254113 DOI: 10.3390/nu3050604]
51 Ren ZG, Liu H, Jiang JW, Jiang L, Chen H, Xie HY, Zhou L, Zheng SS. Protective effect of probiotics on intestinal barrier function in malnourished rats after liver transplantation. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2011; 10: 489-496 [PMID: 21947722]
52 Rowland KJ, Trivedi S, Lee D, Wan K, Kulkarni RN, Holzenberger M, Brubaker PL. Loss of glucagon-like peptide-2-induced proliferation following intestinal epithelial insulin-like growth factor-1-receptor deletion. *Gastroenterology* 2011; 141: 2166-2175. e7 [PMID: 21925122 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.09.014]
53 吴云红, 朱亮, 邹原, 李幼生, 朱维铭, 宫德正. 胰高血糖素样肽-2临床应用研究进展. 中国实用外科杂志 2010; 30: 616-618
54 Bahrami J, Yusta B, Drucker DJ. ErbB activity links

the glucagon-like peptide-2 receptor to refeeding-induced adaptation in the murine small bowel. *Gastroenterology* 2010; 138: 2447-2456 [PMID: 20226187 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.03.006]
55 Wallis K, Walters JR, Forbes A. Review article: glucagon-like peptide 2--current applications and future directions. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 25: 365-372 [PMID: 17217448]
56 Abstracts of Asian Pacific Digestive Week 2012. December 5-8, 2012. Bangkok, Thailand. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27 Suppl 5: 1-461 [PMID: 23205898 DOI: 10.1111/jgh.12005]

编辑 田滢 电编 闫晋利

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

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775

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

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2013年4月28日; 21(12): 1062-1069
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

沉默干扰*HMGA2*对胃癌细胞Wnt/β–Catenin信号转导通路的影响

姜 丹, 赖铭裕, 陈家庄, 韦丽秀

■背景资料
*HMGA2*与Wnt/β-Catenin信号通路都是肿瘤发生的研究热点, 他们的表达产物可以调节其他基因的转录, 参与细胞的增殖与凋亡, 有研究表明两者在胃癌中都有异常的激活, 但是有关*HMGA2*对胃癌细胞的增殖生长和凋亡的影响以及在胃癌的发生机制中尤其是在信号转导通路及其分子机制的研究报道相对较少.

姜丹, 赖铭裕, 陈家庄, 韦丽秀, 广西医科大学第一附属医院老年消化内科 广西壮族自治区南宁市 530021
姜丹, 在读硕士, 主要从事胃癌发病机制方面的研究.
广西医疗卫生重点科研基金资助项目, No. 重2010021
广西自然科学基金资助项目, No. 2010GXNSFA013166
作者贡献分布: 姜丹与赖铭裕对此文所作贡献均等; 本论文写作、数据分析由姜丹与赖铭裕完成; 实验设计、资金申请及论文审阅指导由赖铭裕完成; 实验操作由姜丹、陈家庄及韦丽秀完成.
通讯作者: 赖铭裕, 教授, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路6号, 广西医科大学第一附属医院老年消化内科.
laimingyu2005103@yahoo.com.cn
电话: 0771-2665673
收稿日期: 2013-01-31 修回日期: 2013-03-06
接受日期: 2013-04-07 在线出版日期: 2013-04-28

Effect of *HMGA2* gene silencing on Wnt/β-Catenin signaling pathway in gastric cancer cells

Dan Jiang, Ming-Yu Lai, Jia-Zhuang Chen, Li-Xiu Wei

Dan Jiang, Ming-Yu Lai, Jia-Zhuang Chen, Li-Xiu Wei, Department of Geriatric Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Supported by: the Guangxi Medical Health Key Research Project, No. Zhong 2010021; and the Natural Science Foundation of Guangxi, No. 2010GXNSFA013166
Correspondence to: Ming-Yu Lai, Professor, Department of Geriatric Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 6 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. laimingyu2005103@yahoo.com.cn
Received: 2013-01-31 **Revised:** 2013-03-06
Accepted: 2013-04-07 **Published online:** 2013-04-28

Abstract

AIM: To induce *HMGA2* gene silencing with shRNAs in gastric cancer cell line MKN-45 and to study the interaction between HMGA2 and the Wnt/β-Catenin signaling pathway.

METHODS: A shRNA eukaryotic expression vector that expresses shRNAs of HMGA2 was constructed and transfected into gastric cancer cell line MKN-45. The mRNA and protein expression of HMGA2 was measured by RT-PCR and Western blot 48 h and 72 h after transfection to evaluate the effect of RNA interference. The mRNA and protein expression of β-Catenin, c-myc and cyclin D1 were also measured by RT-PCR and Western blot.

RESULTS: The expression of HMGA2 mRNA 48 h after transfection was significantly lower in the shHMG-A2-1 group than in the shHMGA2-2 group, shHMGA2-3 group, scrambled group and blank control group (0.58 ± 0.07 *vs* 0.92 ± 0.13, 0.90 ± 0.16, 1.07 ± 0.14, 1.19 ± 0.09, all $P < 0.05$), but showed no significant difference among the latter four groups (all $P > 0.05$). Since HMGA2 expression was most significantly silenced in the shHMGA2-1 group (51.3% at 48 h), the plasmid pLLU2G-shHMGA2-1 was chosen for use in subsequent experiments. The expression of HMGA2 protein 72 h after transfection in the shHMGA2-1 group was significantly lower than that in the scrambled group and blank group (0.11 ± 0.03 *vs* 0.48 ± 0.12, 0.55 ± 0.08, both $P < 0.05$). The silencing efficiency of transfection of shHMGA2-1 was 80% at 72 h. After silencing the *HMGA2* gene, the expression of β-Catenin, c-myc and cyclin D1 mRNAs and proteins was significantly inhibited in the shHMGA2-1 group compared to the blank control group and the scrambled group (β-Catenin mRNA: 0.53 ± 0.04 *vs* 1.07 ± 0.02, 0.91 ± 0.02; β-Catenin protein: 0.44 ± 0.05 *vs* 0.69 ± 0.04, 0.67 ± 0.10; c-myc mRNA: 0.39 ± 0.04 *vs* 0.88 ± 0.05, 0.84 ± 0.03; c-myc protein: 0.25 ± 0.07 *vs* 0.75 ± 0.09, 0.66 ± 0.10; cyclin D1 mRNA: 0.31 ± 0.02 *vs* 0.52 ± 0.03, 0.51 ± 0.01; cyclin D1 protein: 0.12 ± 0.01 *vs* 0.73 ± 0.12, 0.61 ± 0.07; all $P < 0.05$).

CONCLUSION: The recombinant plasmid PLLU2G-shHMGA2 could effectively inhibit the expression of *HMGA2* gene in gastric cancer cell line MKN-45. Silencing of the *HMGA2* gene restrained the expression of β-Catenin and its downstream target genes *c-myc* and *cyclin D1*. *HMGA2* controls the growth and apoptosis of gastric cancer cells possibly *via* the Wnt/β-Catenin signal pathway.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

■同行评议者
樊晓明, 教授, 主任医师, 复旦大学附属金山医院消化科

Key Words: High mobility protein A2; Gastric cancer cell; Short hairpin RNA; Wnt/β-Catenin signal pathway

Jiang D, Lai MY, Chen JZ, Wei LX. Effect of *HMGA2* gene silencing on Wnt/β-Catenin signaling pathway in gastric cancer cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(12): 1062-1069 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1062.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1062

摘要

目的: 观察小分子RNA沉默*HMGA2*在胃癌细胞株MKN-45的表达, 研究HMGA2对Wnt/β-Catenin通路中主要分子β-Catenin以及下游靶分子c-myc、Cyclin D1的表达量及转录活性的影响, 探讨HMGA2对Wnt/β-Catenin信号转导通路的影响.

方法: 构建针对人*HMGA2*基因的shRNA真核表达载体, 瞬时转染人胃癌细胞株MKN-45, 用RT-PCR、Western blot分别检测转染后shHMGA2组、scrambled组和空白对照组细胞中HMGA2 mRNA和蛋白的表达情况, 评估抑制效应; 分别检测转染后3组细胞中的β-Catenin、c-myc、Cyclin D1 mRNA和蛋白的表达水平.

结果: 转染48 h后shHMGA2-1组的HMGA2 mRNA相对表达量(0.58±0.07), 与shHMGA2-2组(0.92±0.13)、shHMGA2-3组(0.90±0.16)、scrambled组(1.07±0.14)及空白对照组(1.19±0.09)相比有统计学意义(P<0.05), 其他4组相比无统计学意义(P>0.05); 转染48 h后shHMGA2-1组的HMGA2沉默效果最好, HMGA2 mRNA表达明显下降,抑制率51.3%; 故选用质粒shHMGA2-1继续后续实验; Western blot结果显示转染72 h后shHMGA2-1组HMGA2蛋白相对表达量为(0.11±0.03), 与scrambled组(0.48±0.12)及空白对照组(0.55±0.08)相比有统计学意义(P<0.05), HMGA2蛋白表达明显下降, 抑制率80%; 沉默干扰HMGA2 48 h和72 h后, β-Catenin mRNA和蛋白表达水平在空白对照组(1.07±0.02, 0.69±0.04)与scrambled组(0.91±0.02, 0.67±0.10)中无明显差异(P>0.05), 而shHMGA2-1组(0.53±0.04, 0.44±0.05)较之两组有明显的下降(P<0.05); shHMGA2-1组中c-myc mRNA和蛋白相对表达量为(0.39±0.04, 0.25±0.07)较之空白对照组(0.88±0.05, 0.75±0.09)、scrambled组(0.84±0.03, 0.66±0.10)有明显下降(P<0.05), 后两组相比较无统计学意义(P>0.05); shHMGA2-1组中Cyclin D1 mRNA和蛋白相对表达量为(0.31±0.02, 0.12±0.01)较之空白对照组(0.52±0.03, 0.73±0.12)、scrambled组(0.51±0.01, 0.63±0.07)有明显下降(P<0.05), 后两组相比较无统计学意义(P>0.05).

结论: RNAi载体能有效地抑制HMGA2在胃癌细胞株MKN-45中的表达, 沉默干扰HMGA2抑制了Wnt/β-Catenin通路中的主要分子β-Catenin以及下游靶分子c-myc、Cyclin D1的表达, *HMGA2*基因可能是通过调控Wnt/β-Catenin通路对胃癌细胞生长和凋亡发挥作用的.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 高迁移率蛋白A2; 胃癌细胞; 短发夹RNA; Wnt/β-Catenin信号通路

核心提示: HMGA2在胃癌组织中高表达, 而在正常胃组织中几乎不表达. 沉默干扰*HMGA2*基因后, β-Catenin mRNA和蛋白的表达水平受到抑制, 使得β-Catenin在胞质中降解, Wnt/β-Catenin信号转导通路下游的靶分子c-myc、Cyclin D1 mRNA和蛋白的表达水平也受到抑制, 从而抑制细胞的生长增殖和促进细胞的凋亡. HMGA家族可能通过Wnt/β-Catenin信号转导通路最终导致胃癌的发生.

姜丹, 赖铭裕, 陈家庄, 韦丽秀. 沉默干扰*HMGA2*对胃癌细胞Wnt/β-Catenin信号转导通路的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(12): 1062-1069 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1062.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1062

■**研发前沿**
Wnt/β-Catenin信号通路中β-Catenin进入细胞核内与TCF/LEF结合, 激活下游一系列的靶分子发生效应. HMGA2作为构架转录因子, 与含有HMG的DNA结合框的TCFs家族TCF/LEF有部分相似结构域. HMGA2可能通过Wnt/β-Catenin信号转导通路最终导致胃癌的发生.

0 引言

胃癌是我国最常见的恶性肿瘤之一, 其死亡率仅次于肺癌、肝癌, 全球每年新发胃癌病例愈百万, 其中41%发生在中国. 全球每年因胃癌死亡80万人, 中国占35%[1]. 胃癌的发生、发展与原癌基因的激活、抑癌基因的失活以及凋亡相关基因的异常表达等均有密切的关系. 尽管近年来对胃癌的研究取得了进展, 但大多数患者有临床症状时都已处于晚期并出现远处转移. 高迁移率蛋白(high mobility group protein, HMG)是广泛存在真核生物中的一系列染色质相关蛋白, 由于其在聚丙烯酰胺凝胶电泳(polyacrylamide gel electrophoresis, PAGE)中迁移能力较强而得名. HMG包括3个家族: HMGA、HMGB、HMGN. HMGA家族由HMGA1a、HMGA1b、HMGA1c、HMGA2 4种蛋白组成. 前3种蛋白由同一基因编码, 转录后被剪接成不同长度的蛋白质. *HMGA2*则由一个断裂基因

■相关报道
Akaboshi等研究发现在胃癌细胞中沉默干扰HMGA1能抑制Wnt/β-Catenin通路激活Wnt/β-Catenin信号转导通路, 最终导致胃癌的发生.

编码. 高迁移率蛋白A家族每种蛋白都含有3个AT-钩结构与和1个酸性C末端. *HMGA2*基因定位于人类第12号染色体的q15区, 由4个内显子及5个外显子组成, 1-3号外显子负责编码AT-钩结构, 4号外显子负责编码AT-钩结构与酸性C末端的间隔区, 5号外显子则负责编码酸性C末端. *HMGA2*基因的表达产物, 是一种非组蛋白染色体蛋白, 本身缺乏转录活性, 但能通过AT-钩与DNA结合而改变染色质的结构, 或者直接与相关蛋白结合发生作用, 调节其他基因的转录, 从而影响胚胎形成、组织发育和肿瘤发生等多个过程, 又被称为“构架转录因子”. HMGA2在胚胎期以及不成熟组织中大量表达, 而在分化成熟的组织中几乎不表达[2]. 研究表明HMGA2蛋白的表达参与人类多种肿瘤的发生, 如肺癌[3]、卵巢癌[4]、直肠癌[5]、胰腺癌[6]、脂肪瘤[7]等. 这些肿瘤的发生、发展均与*HMGA2*基因表达异常有关, 并发现其表达增强与预后有关, 是一个潜在肿瘤标志物. Motoyama等[8]对110例胃癌患者的HMGA2 mRNA的表达研究发现, HMGA2 mRNA的高表达. 但是有关HMGA2对胃癌细胞的增殖生长和凋亡的影响以及在胃癌的发生机制中尤其是在信号转导通路及其分子机制的研究报道较少. Wnt/β-Catenin信号通路, 是经典Wnt信号途径, 当Wnt信号存在时, Wnt蛋白与卷曲蛋白胞外区结合, 在辅助受体低密度脂蛋白受体相关蛋白5和6协同作用下, 胞质中Dsh蛋白被募集至胞膜下, 使糖原合酶激酶3β磷酸化失活并从轴蛋白上脱落, 则β连环蛋白不能被降解, 大量游离的β连环蛋白在胞质中聚集并进入胞核内与转录因子T细胞因子/淋巴细胞增强因子结合, 启动一系列下游靶分子如c-myc、Cyclin D1的表达. 下游靶分子大多数是参与细胞的增殖与凋亡. β-Catenin作为Wnt信号通路的核心分子, 他在细胞质中的累积是信号激活的关键. 近年国内外研究, Wnt/β-Catenin信号通路的异常激活与人类多种恶性肿瘤有关, 如: 胃癌、直肠癌、肝癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、恶性黑色素瘤等. Cheng等[9]在胃癌组织(包括弥漫型和肠型胃癌)中检测到β-Catenin异常的核内积聚, 而且与淋巴结远处转移及肿瘤分期呈正相关. Ebert等[10]在部分胃癌组织中发现β-Catenin表达增高, 并检测到*β-Catenin*基因突变. HMGA2与Wnt/β-Catenin信号通路都是肿瘤发生的研究热点, 特别在胃癌中都有异常的激活. β-Catenin进入细胞核内与TCF/LEF结合, 激活下游一系列的下游靶分子发生效应. HMGA2作为构架转录因子, 与含有HMG的DNA结合框的TCFs家族TCF/LEF[11]有一定的相似结构域. 我们大胆猜测HMGA2的异常表达可能会激活Wnt/β-Catenin信号通路, 进而促进肿瘤的发生. 本研究为观察shRNA沉默*HMGA2*基因在胃癌细胞株MKN-45的表达, 研究HMGA2对Wnt/β-Catenin信号转导通路中主要分子β-Catenin以及下游靶分子c-myc、Cyclin D1的表达量及转录活性的影响, 为*HMGA2*基因的在胃癌的作用机制做初步探讨, 从而给胃癌的*HMGA2*靶向基因治疗提供依据.

1 材料和方法

1.1 材料 人胃癌细胞株MKN-45购自ATCC细胞库; DMEM培养基、PVDF膜购自Solarbio公司; 胎牛血清购自杭州四季青公司; Lipofectamine™2000购自美国Invitrogen公司; 质粒PLL2G-shHMGA2、PLL2G-scrambled均由赛业(广州)生物科技有限公司设计合成; TRIzol抽提试剂购自上海生工生物工程有限公司; M-MLV逆转录试剂盒、Dream Taq Green PCR Master Mix购自Fermentas公司; DNA Marker-B(100-600 bp)购自美国Bio Basic Inc公司; RIPA裂解液(强)、苯甲基磺酰氟、超敏ECL化学发光试剂盒、SDS-PAGE蛋白上样缓冲液(5×)购自碧云天生物科技有限公司; 鼠抗人HMGI-C单克隆抗体、鼠抗人β-Catenin单克隆抗体、鼠抗人c-myc单克隆抗体、鼠抗人Cyclin D1单克隆抗体均购自美国Santa Cruz公司; HRP标记山羊抗鼠二抗、鼠抗人β-Cactin单克隆抗体购自北京中杉金桥有限公司; 预染蛋白Marker购自美国BBI公司; 琼脂糖粉购自西班牙BIOWEST; 丙烯酰胺、N,N-亚甲双丙烯酰胺、过硫酸铵(AP)、Tris碱、甘氨酸、SDS、TEMED、Tween-20、NaCl、显影粉、定影粉、甲醇、氯仿、异丙醇、无水乙醇、DEPC处理水、核酸染料均购自上海生工生物工程有限公司.

1.2 方法

1.2.1 shRNA表达载体的构建和鉴定: 根据NCBI GenBank上登录的人类*HMGA2*基因mRNA序列资料(登录号: NM-003483), 由赛业(广州)生物科技有限公司设计合成设计、合成并鉴定4对shRNAoligo, 构建的重组质粒分别命名为PLL2G-shHMGA2-1、PLL2G-shHMGA2-2, PLL2G-shHMGA2-3、PLL2G-scrambled(阴性

对照).

1.2.2 细胞培养及瞬时转染: 人胃癌细胞MKN-45培养在含10%胎牛血清的DMEM培养基, 置于37 ℃、50 mL/L CO_2培养箱中培养. 转染前1 d, 用0.25%胰酶+EDTA消化细胞并计数, 以4×10^5/孔的密度种在6孔板, 用含血清、无双抗的DMEM培养基放在CO_2培养箱培养过夜. 使其在转染当天细胞密度达80%-90%. 分别用250 μL的DMEM稀释4 μg质粒、4 μL Lipofectamine™2000, 5 min后将两者混合, 室温放置20 min后将混合物加入到6孔板中, 用无血清的DMEM培养基继续培养, 6 h后换液. 实验分组: 空白对照组(只加脂质体)、scrambled组(转染阴性质粒)、shHMGA2-1组、shHMGA2-2组、shHMGA2-1组(转染HMGA2的阳性质粒).

1.2.3 逆转录聚合酶链反应RT-PCR检测各组细胞的HMGA2、β-Catenin、c-myc、Cyclin D1的mRNA表达: TRIzol抽提试剂提取细胞总RNA, 测定其浓度及纯度($A_{260-280}$为1.8-2.0) 根据GenBank中人类*HMGA2*(登录号: NM_003483)、*β-Catenin*(登录号: NM_001904)、*c-myc*(登录号: NM_002467)、*Cyclin D1*(登录号: NM_053056)基因序列, 以GAPDH为内参照, 利用引物设计软件Primer5设计引物序列. 引物由上海生工生物工程有限公司合成: HMGA2上游序列: AAGCAGCAGCAAGAACCAAC, 下游序列: AGTCCTCTTCGGCAGACTCTT, 扩增产物大小为230 bp, 退火温度为58 ℃; β-Catenin上游序列: CCATCATCGTGAGGGCTTAC, 下游序列: TGCTTTCTTGGTTGCCATAAG, 扩增产物大小为269 bp, 退火温度为62 ℃; c-myc上游序列: GAACTTACAACACCCGAGCAAG, 下游序列: TTCTCCTCCTCGTCGCAGTA, 扩增产物大小为264 bp, 退火温度为60 ℃; Cyclin D1上游序列: ATGCCAACCTCCTCAACGACC, 下游序列: TCAGGGGGATGGTCTCCTTCA, 扩增产物大小为303 bp, 退火温度为60 ℃; GAPDH上游序列: GAAGGTGAAGGTCGGAGTC, 下游序列: TCACACCCATGACGAACAT, 扩增产物大小为401 bp, 退火温度为58 ℃; 以反应总体积25 μL进行PCR扩增反应. 反应条件: 95 ℃变性5 min, 94 ℃变性40 s, 58 ℃退火40 s, 72 ℃延伸40 s, 共30个循环, 72 ℃终末延伸10 min. 取终末产物进行琼脂糖凝胶电泳, 采用Bio-Rad Gel doc2000凝胶成像分析系统扫描, 保存电泳图并分析实验结果. 对电泳结果图像进行条带灰度测定, 最终以目的基因条带与内参基因条带的灰度值的比值作为该目的基因的表达值.

1.2.4 Western blot检测转染后各组HMGA2、β-Catenin、c-myc、Cyclin D1蛋白的表达: 用RIPA裂解液裂解细胞, 离心, 得到的上清与上样缓冲液4∶1混合, 经变性, 即得蛋白质样品, 将样品加入凝胶孔道中进行电泳, 100 mA稳流状态下转膜, 将蛋白转至PVDF膜, 用5%脱脂牛奶封闭, 再把膜置于一抗(1∶500)稀释液中摇床冰上孵育过夜, 次日用TBST洗膜后置于二抗(1∶10 000)稀释液中室温孵育1 h, 洗膜, 显影, 定影, 以β-actin为内参照经凝胶分析软件分析其灰度值, 计算HMGA2、β-Catenin、c-myc、Cyclin D1和β-actin蛋白在各组表达条带的灰度值, 两者灰度值的比值反映各组蛋白的表达.

统计学处理 应用SPSS13.0软件包进行统计学处理, 所有实验数据均以mean±SD表示, 对各指标进行单因素方差分析(one-way ANOVA), 两组均数间的比较用SNK检验, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 HMGA2 mRNA的表达水平 RT-PCR结果显示: 5组实验组均有HMGA2 mRNA的表达, shHMGA2-2组、shHMGA2-3组以及scrambled组较之于空白对照组没有明显改变($P>0.05$), shHMGA2-1组的HMGA2 mRNA的表达显著下调($P<0.05$), 说明质粒PLL2G-shHMGA2-1转染MKN-45细胞成功, 其沉默干扰效果较质粒PLL2G-shHMGA2-2、质粒PLL2G-shHMGA2-3的明显, 其沉默干扰HMGA2 mRNA沉默表达率为51.26%. 后续实验研究即选择质粒PLL2G-shHMGA2-1作为阳性对照组(表1, 图1).

2.2 HMGA2蛋白的表达水平 Western blot结果显示: 与空白对照组相比, scrambled组蛋白的表达相对于空白对照组无明显差异($P>0.05$), 而shHMGA2-1组的蛋白表达明显下降($P<0.05$), 其沉默表达下降80%(图2, 表2).

2.3 PT-PCR检测转染*HMGA2*基因48 h后对β-Catenin及下游靶分子c-myc、Cyclin D1 mRNA表达水平的影响 沉默干扰HMGA2 48 h后, β-Catenin mRNA表达水平在空白对照组(1.07±0.02)与scrambled组(0.91±0.02)中无明显差异($P>0.05$), 而shHMGA2-1组(0.53±0.04)较之两组有明显的下降($P<0.05$); c-myc mRNA相对表达量在shHMGA2-1组中为(0.39±0.04)

■创新盘点

本研究通过构建shRNA沉默HMGA2基因在胃癌细胞株MKN-45的表达, 研究HMGA2对Wnt/β-Catenin信号转导通路中主要分子β-Catenin以及下游靶分子c-myc、Cyclin D1的表达量及转录活性的影响, 为HMGA2与Wnt/β-Catenin信号通路在胃癌的相互作用机制作初步探讨, 从而给胃癌的HMGA2靶向基因治疗提供依据.

■应用要点

本文通过构建针对人HMGA2基因的shRNA真核表达载体，瞬时转染人胃癌细胞株MKN-45，用RT-PCR、Western blot分别检测转染后HMGA2 mRNA和蛋白的表达情况及细胞中的β-Catenin、c-myc、Cyclin D1 mRNA和蛋白的表达水平，以研究HMGA2对Wnt/β-Catenin信号转导通路中主要分子β-Catenin以及下游靶分子c-myc、Cyclin D1的表达量及转录活性的影响，从而给胃癌的HMGA2靶向基因治疗提供依据.

表 1 转染48 h后不同实验组的HMGA2 mRNA的表达 (mean ± SD)

分组	HMGA2的平均灰度值
scrambled组	1.07 ± 0.14
shHMGA2-1组	0.58 ± 0.07[a]
shHMGA2-2组	0.92 ± 0.13
shHMGA2-3组	0.90 ± 0.16
空白对照组	1.19 ± 0.09

[a]*P*<0.05 *vs* 空白对照组.

表 2 转染48 h后不同实验组的HMGA2 mRNA的表达 (mean ± SD)

分组	HMGA2的平均灰度值
scrambled组	0.48 ± 0.12
shHMGA2-1组	0.11 ± 0.03[a]
空白对照组	0.55 ± 0.08

[a]*P*<0.05 *vs* 空白对照组.

较之空白对照组(0.88±0.05)、scrambled组(0.84±0.03)有明显下降(*P*<0.05), 后两组相比较无统计学意义(*P*>0.05); Cyclin D1 mRNA相对表达量在shHMGA2-1组中为(0.31±0.02)较之空白对照组(0.52±0.03)、scrambled组(0.51±0.01)有明显下降(*P*<0.05), 后两组相比较无统计学意义(*P*>0.05)(图3-5).

2.4 Western blot检测转染*HMGA2*基因72 h后对β-Catenin及下游靶分子c-myc、Cyclin D1蛋白表达水平的影响 沉默干扰HMGA2 72 h后, β-Catenin蛋白的表达水平在空白对照组(0.69±0.04)与scrambled组(0.67±0.10)中无明显差异(*P*>0.05), 而shHMGA2-1组(0.44±0.05)较之两组有明显的下降(*P*<0.05); c-myc蛋白相对表达量在shHMGA2-1组中为(0.25±0.07)较之空白对照组(0.75±0.09)、scrambled组(0.66±0.10)有明显下降(*P*<0.05), 后两组相比较无统计学意义(*P*>0.05); Cyclin D1蛋白相对表达量在shHMGA2-1组中为(0.12±0.01)较之空白对照组(0.73±0.12)、scrambled组(0.61±0.07)有明显下降(*P*<0.05), 后两组相比较无统计学意义(*P*>0.05)(图6-8).

3 讨论

胃癌是我国最常见的恶性肿瘤之一, 其死亡率仅次于肺癌、肝癌. 全球每年新发胃癌病例愈百万, 其中41%发生在中国. 全球每年因胃癌死

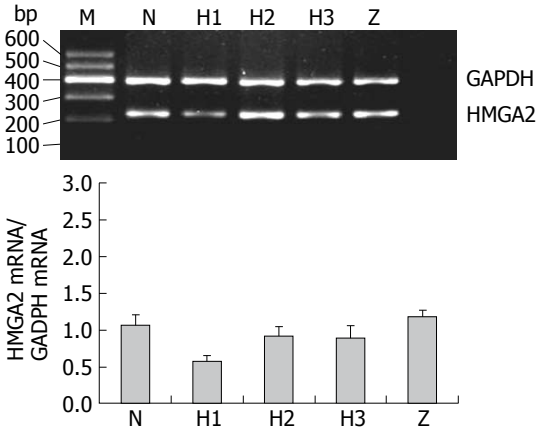


图 1 转染48 h后不同实验组的HMGA2 mRNA的表达. N: scrambled组; H1: shHMGA2-1组; H2: shHMGA2-1组; H3: shHMGA2-1组; Z: 空白对照组; M: Marker.

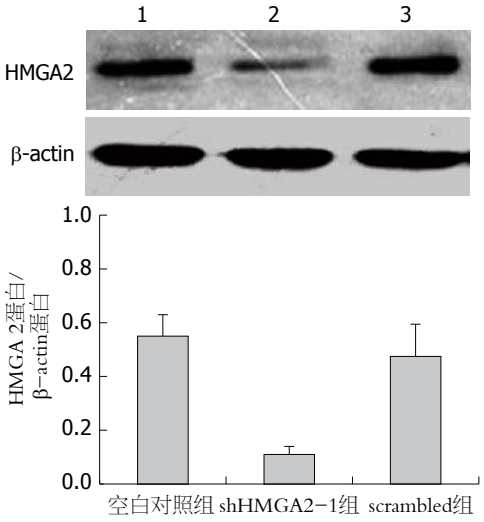


图 2 转染72 h后不同实验组的HMGA2蛋白的表达. 1: 空白对照组; 2: shHMGA2-1组; 3: scrambled组.

亡80万人, 中国占35%[1]. 胃癌的治疗要采用个体化、规范化的综合治疗模式, 目前治疗手段主要以手术为主, 辅助以放化、疗结合免疫治疗、分子生物的靶向治疗和营养支持等.

基因治疗是20世纪80年代发展起来的人类医学分子遗传学中的新领域, 发展非常迅速, 而安全有效的基因载体是成功进行基因治疗的先决条件, 也是目前主要的技术路线. RNAi是近年来发展起来的一项新技术, 是由内源性或外源的双链RNA导入细胞而引起同源的mRNA降解, 进而抑制其相应的基因表达[12]. RNAi技术在子宫颈癌、乳腺癌、肝癌等人类肿瘤细胞株体外抑制实验中获得了成功[13-15]. 陈鹏等[16]应用RNAi技术构建Livin的siRNA载体转染至胃癌细胞, 并使用RT-PCR检测胃癌细胞mRNA水平变化, MTT检测细胞增殖, 流式细胞仪检测细胞凋

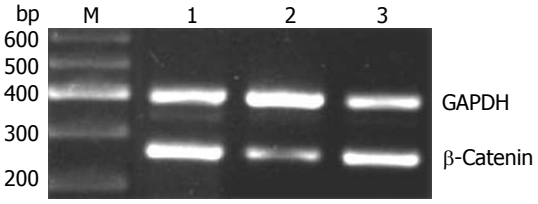


图 3 转染48 h后不同实验组的β-Catenin mRNA的表达. 1: 空白对照组; 2: shHMGA2-1组; 3: scrambled组; M: Marker.

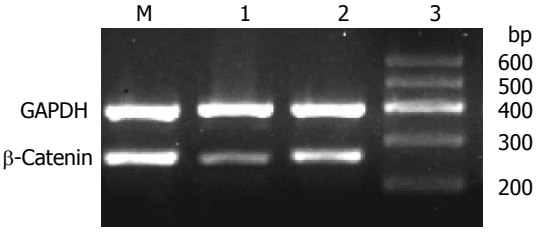


图 4 转染48 h后不同实验组的c-myc mRNA的表达. 1: 空白对照组; 2: shHMGA2-1组; 3: scrambled组; M: Marker.



图 5 转染48 h后不同实验组的Cyclin D1 mRNA的表达. 1: 空白对照组; 2: shHMGA2-1组; 3: scrambled组; M: Marker.

亡, 结果显示转染siRNA组Livin mRNA表达显著低于对照组, 并且胃癌细胞生长明显抑制, 凋亡率显著增加. 他具有特异、高效等突出优点, 现已被广泛用于胃癌基因治疗方面的研究与探索.

本研究通过构建3个针对*HMGA2*基因的RNAi载体PLLU2G-shHMGA2以及1个阴性序列的载体, 经限制性酶切及基因测序证实, 通过细胞内GFP荧光表达, 证实转染效率. 转染胃癌细胞MKN-45成功, 为下一步研究奠定基础.

HMGA2是一种非组蛋白染色体蛋白, 本身缺乏转录活性, 但能通过AT-钩与DNA结合而改变染色质的结构, 或者直接与相关蛋白结合发生作用, 调节其他基因的转录, 从而影响胚胎形成、组织发育和肿瘤发生等多个过程, 又被称为“构架转录因子”[17-19]. 研究表明*HMGA2*基因在一些恶性肿瘤中可以作为诊断的分子标志物判断预后的独立因素. Hristov等[6]认为HMGA2在胰腺导管腺癌中表达量增加, 与淋巴结转移和肿瘤分级呈正相关, 可能是胰腺癌的一个重要的生物标志. Wang等[20]研究发现HMGA2是大肠癌的重要生物标志物. Meyer等[21]

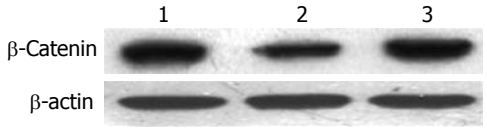


图 6 转染72 h后不同实验组的β-Catenin蛋白的表达. 1: 空白对照组; 2: shHMGA2-1组; 3: scrambled组.

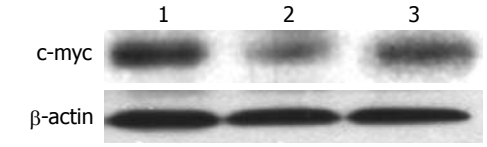


图 7 转染72 h后不同实验组的c-myc蛋白的表达. 1: 空白对照组; 2: shHMGA2-1组; 3: scrambled组.

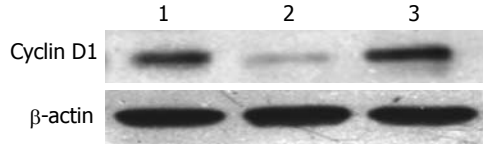


图 8 转染72 h后不同实验组的Cyclin D1蛋白的表达. 1: 空白对照组; 2: shHMGA2-1组; 3: scrambled组.

对34例非小细胞肺癌及相应的正常组织(其中17例腺癌、17例鳞癌)通过定量RT-PCR及免疫组织化学研究发现, HMGA2蛋白明显高于正常组, HMGA2的过表达见于所有的肺癌组织, 因此认为HMGA2是肺癌检测的潜在肿瘤标志物. Malek等[4]通过基因沉默技术研究*HMGA2*对卵巢癌细胞株Ovcar-3和OAW-42(都有HMGA2的过表达)生存、增殖及细胞周期的影响, 结果显示细胞的增长受到抑制, 凋亡增减, 进入S期的细胞明显减少, 认为*HMGA2*基因可能为卵巢癌治疗的潜在靶点. Sarhadi等[22]通过对152例NSCLC患者组织中HMGA1和HMGA2的表达的研究, 评估HMGA作为肺癌标记的可行性. 发现肺癌组织较正常肺组织中HMGA1和HMGA2明显高表达.

研究表明HMGA2在胃癌组织中高表达, 而在正常胃组织中几乎不表达. Motoyama等[8]对110例胃癌患者的HMGA2 mRNA的表达研究发现, HMGA2 mRNA的高表达与胃癌患者的浆膜浸润淋巴结转移及静脉的浸润成正相关, 但与性别、肿块大小和组织病理的类型无明显相关性. 本研究转染重组质粒后, 用RT-PCR、Western blot检测其各组细胞的沉默效果, 结果显示转染48 h后shHMGA2-1组HMGA2 mRNA的抑制率为51.3%, 而转染72 h后shHMGA2-1组HMGA2蛋白抑制率为80%, 表明沉默效果已经

■同行评价

本文探讨了沉默干扰HMGA2对Wnt/β-Catenin信号转导通路的影响, 对*HMGA2*基因在胃癌发病中的作用及可能的作用机制提供了理论依据.

在基因和在蛋白的层面上发挥作用.

在胃癌发生发展中, HMGA2的作用的分子机制不是非常清楚, 以往研究认为HMGA2的表达可能与胃癌临床转移和进展能力有关, 而其主要机制可能是HMGA2促进胃癌细胞EMT的发生[23-25]. Ohshima等[26]认为HMGA2与let-7家族负向调控, 与胃癌的侵袭性相关. HMGA2通过转化一些分子信号通路, 如: 生长因子β信号通路和Ras信号通路来完成的肿瘤的发生. Watanabe等[27]认为HMGA2表达上调激活Ras信号通路, 从而导致胰腺癌的发生.

Wnt/β-Catenin通路是经典Wnt信号途径, 越来越多的研究表明, Wnt信号通路不仅在调控胚胎发育中起关键作用, 而且他与人类多种恶性肿瘤的发生和发展也是密切相关. 目前, Wnt信号通路与人类肿瘤的关系备受关注, 是国际前沿的一个研究热点. 在早期的Wnt信号通路的缺陷可导致多种生物发育缺陷, 而癌基因、抑癌基因或Wnt信号通路成分(如APC、β-Catenin、Axin等)的突变致其不恰当的激活与肿瘤的发生、发展有关, 尤其与消化系肿瘤关系密切[28]. Hörig等[29]的实验显示: 特异地阻断裸鼠体内人*APC*突变的CRC细胞系β-Catenin表达后, 明显抑制裸鼠体内肿瘤生长, 部分肿瘤可消失.

研究表明当Wnt信号存在时, β-Catenin不能被降解, 大量游离的β-Catenin在胞质中聚集并进入胞核内与转录因子T细胞因子/淋巴细胞增强因子结合, 启动一系列下游靶分子如c-myc、Cyclin D1的表达. 下游靶分子大多数是参与细胞的增殖与凋亡. 本研究表明沉默干扰*HMGA2*基因后, β-Catenin mRNA和蛋白的表达水平受到抑制, Wnt/β-Catenin信号转导通路下游的靶分子c-myc、Cyclin D1 mRNA和蛋白的表达水平也受到抑制. 抑制HMGA2的表达, 使得β-Catenin在胞质中降解, 抑制Wnt/β-Catenin信号转导通路下游的靶分子, 从而抑制细胞的生长增殖和促进细胞的凋亡. 而与Akaboshi等[30]研究发现在胃癌细胞中沉默干扰HMGA1能抑制Wnt/β-Catenin通路的激活Wnt/β-Catenin信号转导通路, 最终导致胃癌的发生, 抑制细胞的生长增值和促进细胞的凋亡. 表明HMGA家族可能通过Wnt/β-Catenin信号转导通路, 最终导致胃癌的发生结果相一致.

但本实验只是针对主要基因*β-Catenin*及下游的靶分子*c-myc*、*Cyclin D1*进行检测, 而Wnt/β-Catenin通路中还有许多的基因和下游靶基因没有做相关的检测, 还有*HMGA2*是通过什么机制导致β-Catenin异常累积等方面没有做相关的研究. 总之探索并阐明这一机制将为临床预测肿瘤患者的诊断、预后、转移等提供参考指标, 同时也能为肿瘤分子靶向治疗和开发新药物提供一个突破点.

4 参考文献

1 季加孚, 季鑫. 胃癌治疗的新进展. 循证医学 2011; 11: 82-86

2 Cleynen I, Van de Ven WJ. The HMGA proteins: a myriad of functions (Review). *Int J Oncol* 2008; 32: 289-305 [PMID: 18202751]

3 Di Cello F, Hillion J, Hristov A, Wood LJ, Mukherjee M, Schuldenfrei A, Kowalski J, Bhattacharya R, Ashfaq R, Resar LM. HMGA2 participates in transformation in human lung cancer. *Mol Cancer Res* 2008; 6: 743-750 [PMID: 18505920 DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-07-0095]

4 Malek A, Bakhidze E, Noske A, Sers C, Aigner A, Schäfer R, Tchernitsa O. HMGA2 gene is a promising target for ovarian cancer silencing therapy. *Int J Cancer* 2008; 123: 348-356 [PMID: 18452175 DOI: 10.1002/ijc.23491]

5 Huang ML, Chen CC, Chang LC. Gene expressions of HMGI-C and HMGI(Y) are associated with stage and metastasis in colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis* 2009; 24: 1281-1286 [PMID: 19609535 DOI: 10.1007/s00384-009-0770-7]

6 Hristov AC, Cope L, Reyes MD, Singh M, Iacobuzio-Donahue C, Maitra A, Resar LM. HMGA2 protein expression correlates with lymph node metastasis and increased tumor grade in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Mod Pathol* 2009; 22: 43-49 [PMID: 18843278 DOI: 10.1038/modpathol.2008.140]

7 Bartuma H, Panagopoulos I, Collin A, Trombetta D, Domanski HA, Mandahl N, Mertens F. Expression levels of HMGA2 in adipocytic tumors correlate with morphologic and cytogenetic subgroups. *Mol Cancer* 2009; 8: 36 [PMID: 19508721 DOI: 10.1186/1476-4598-8-36]

8 Motoyama K, Inoue H, Nakamura Y, Uetake H, Sugihara K, Mori M. Clinical significance of high mobility group A2 in human gastric cancer and its relationship to let-7 microRNA family. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 2334-2340 [PMID: 18413822 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-4667]

9 Cheng XX, Wang ZC, Chen XY, Sun Y, Kong QY, Liu J, Li H. Correlation of Wnt-2 expression and beta-catenin intracellular accumulation in Chinese gastric cancers: relevance with tumour dissemination. *Cancer Lett* 2005; 223: 339-347 [PMID: 15896469 DOI: 10.1016/j.canlet.2004.11.013]

10 Ebert MP, Fei G, Kahmann S, Müller O, Yu J, Sung JJ, Malfertheiner P. Increased beta-catenin mRNA levels and mutational alterations of the APC and beta-catenin gene are present in intestinal-type gastric cancer. *Carcinogenesis* 2002; 23: 87-91 [PMID: 11756228]

11 Watanabe K, Dai X. A WNTer revisit: new faces of β-catenin and TCFs in pluripotency. *Sci Signal* 2011; 4: pe41 [PMID: 21971038 DOI: 10.1126/scisignal.2002436]

12 彭小壮, 史良会. RNAi在胃癌基因治疗中的研究. 现

代肿瘤医学 2011; 19: 585-587
13 Gao Y, Shan ZY, Wang H, Zhang HM, Teng WP. Inhibitory effect of shRNA targeting GPR48 on invasion and metastasis of human cervical carcinoma cell line HeLa. *Ai Zheng* 2009; 28: 104-107 [PMID: 19550120]
14 Bluff JE, Amarzguioui M, Slattery J, Reed MW, Brown NJ, Staton CA. Anti-tissue factor short hairpin RNA inhibits breast cancer growth in vivo. *Breast Cancer Res Treat* 2011; 128: 691-701 [PMID: 20830515 DOI: 10.1007/s10549-010-1149-8]
15 Zhang D, Liu J, Wang Y, Chen J, Chen T. shRNA-mediated silencing of Gli2 gene inhibits proliferation and sensitizes human hepatocellular carcinoma cells towards TRAIL-induced apoptosis. *J Cell Biochem* 2011; 112: 3140-3150 [PMID: 21695716 DOI: 10.1002/jcb.23240]
16 陈鹏, 孔令斌, 王春松, 杨景玉. siRNA沉默Livin基因对胃癌细胞生长、凋亡的影响. 世界华人消化杂志 2009; 17: 1346-1349
17 Young AR, Narita M. Oncogenic HMGA2: short or small? *Genes Dev* 2007; 21: 1005-1009 [PMID: 17473167 DOI: 10.1101/gad.1554707]
18 Meza-Zepeda LA, Berner JM, Henriksen J, South AP, Pedeutour F, Dahlberg AB, Godager LH, Nizetic D, Forus A, Myklebost O. Ectopic sequences from truncated HMGIC in liposarcomas are derived from various amplified chromosomal regions. *Genes Chromosomes Cancer* 2001; 31: 264-273 [PMID: 11391797 DOI: 10.1002/gcc.1143]
19 Odero MD, Grand FH, Iqbal S, Ross F, Roman JP, Vizmanos JL, Andrieux J, Laï JL, Calasanz MJ, Cross NC. Disruption and aberrant expression of HMGA2 as a consequence of diverse chromosomal translocations in myeloid malignancies. *Leukemia* 2005; 19: 245-252 [PMID: 15618963 DOI: 10.1038/sj.leu.2403605]
20 Wang X, Liu X, Li AY, Chen L, Lai L, Lin HH, Hu S, Yao L, Peng J, Loera S, Xue L, Zhou B, Zhou L, Zheng S, Chu P, Zhang S, Ann DK, Yen Y. Overexpression of HMGA2 promotes metastasis and impacts survival of colorectal cancers. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 2570-2580 [PMID: 21252160 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-10-2542]
21 Meyer B, Loeschke S, Schultze A, Weigel T, Sandkamp M, Goldmann T, Vollmer E, Bullerdiek J. HMGA2 overexpression in non-small cell lung cancer. *Mol Carcinog* 2007; 46: 503-511 [PMID: 17477356 DOI: 10.1002/mc.20235]
22 Sarhadi VK, Wikman H, Salmenkivi K, Kuosma E, Sioris T, Salo J, Karjalainen A, Knuutila S, Anttila S. Increased expression of high mobility group A proteins in lung cancer. *J Pathol* 2006; 209: 206-212 [PMID: 16521118 DOI: 10.1002/path.1960]
23 Thuault S, Valcourt U, Petersen M, Manfioletti G, Heldin CH, Moustakas A. Transforming growth factor-beta employs HMGA2 to elicit epithelial-mesenchymal transition. *J Cell Biol* 2006; 174: 175-183 [PMID: 16831886 DOI: 10.1083/jcb.200512110]
24 查郎, 王子卫, 张能, 黄镇. HMGA2与胃癌上皮细胞间质转化的相关性及临床意义. 生命科学研究 2011; 15: 61-65
25 Zha L, Wang Z, Tang W, Zhang N, Liao G, Huang Z. Genome-wide analysis of HMGA2 transcription factor binding sites by ChIP on chip in gastric carcinoma cells. *Mol Cell Biochem* 2012; 364: 243-251 [PMID: 22246783 DOI: 10.1007/s11010-012-1224-z]
26 Ohshima K, Inoue K, Fujiwara A, Hatakeyama K, Kanto K, Watanabe Y, Muramatsu K, Fukuda Y, Ogura S, Yamaguchi K, Mochizuki T. Let-7 microRNA family is selectively secreted into the extracellular environment via exosomes in a metastatic gastric cancer cell line. *PLoS One* 2010; 5: e13247 [PMID: 20949044 DOI: 10.1371/journal.pone.0013247]
27 Watanabe S, Ueda Y, Akaboshi S, Hino Y, Sekita Y, Nakao M. HMGA2 maintains oncogenic RAS-induced epithelial-mesenchymal transition in human pancreatic cancer cells. *Am J Pathol* 2009; 174: 854-868 [PMID: 19179606 DOI: hymal]
28 McMillan M, Kahn M. Investigating Wnt signaling: a chemogenomic safari. *Drug Discov Today* 2005; 10: 1467-1474 [PMID: 16243267 DOI: 10.1016/S1359-6446(05)03613-5]
29 Hörig H, Wainstein A, Long L, Kahn D, Soni S, Marcus A, Edelmann W, Kucherlapati R, Kaufman HL. A new mouse model for evaluating the immunotherapy of human colorectal cancer. *Cancer Res* 2001; 61: 8520-8526 [PMID: 11731437]
30 Akaboshi S, Watanabe S, Hino Y, Sekita Y, Xi Y, Araki K, Yamamura K, Oshima M, Ito T, Baba H, Nakao M. HMGA1 is induced by Wnt/beta-catenin pathway and maintains cell proliferation in gastric cancer. *Am J Pathol* 2009; 175: 1675-1685 [PMID: 19729480 DOI: 10.2353/ajpath.2009.090069]

编辑 田滢 电编 闫晋利

世界华人消化杂志 2013年4月28日; 21(12): 1070-1074
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

Rac1对胰腺癌增殖的影响及其机制

田 锐, 郭兴军, 江建新, 王 敏, 石程剑, 徐 盟, 彭 丰, 李 旭, 秦仁义

■背景资料
RacGTP酶激活蛋白1(Rac GTPase activating protein1, Rac1)被证实在多种肿瘤细胞系中表达且在肿瘤的发生发展中起到重要作用, 并已经成为药物开发的热点.

田锐, 郭兴军, 王敏, 石程剑, 徐盟, 彭丰, 李旭, 秦仁义, 华中科技大学同济医学院附属同济医院胆胰外科中心 湖北省武汉市 430030
江建新, 贵阳医学院附属医院肝胆外科 贵州省贵阳市 550001
田锐, 主要从事胰腺胆道肿瘤方面的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81001068; No. 81071775
作者贡献分布: 实验设计由田锐与秦仁义完成; 数据获取由郭兴军、王敏、石程剑及徐盟完成;数据统计由彭丰、李旭及江建新完成; 论文撰写由田锐与秦仁义完成; 实验监督由秦仁义完成.
通讯作者: 秦仁义, 430030, 湖北省武汉市解放大道1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院胆胰外科中心.
ryqin@tjh.tjmu.edu.cn
收稿日期: 2013-01-25 修回日期: 2013-03-20
接受日期: 2013-04-07 在线出版日期: 2013-04-28

Role of rac1 in the proliferation of pancreatic carcinoma cells and possible mechanisms involved

Rui Tian, Xing-Jun Guo, Jian-Xin Jiang, Min Wang, Cheng-Jian Shi, Meng Xu, Feng Peng, Xu Li, Ren-Yi Qin

Rui Tian, Xing-Jun Guo, Min Wang, Cheng-Jian Shi, Meng Xu, Feng Peng, Xu Li, Ren-Yi Qin, Department of Biliary-Pancreatic Surgery, Tongji Hospital, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China
Jian-Xin Jiang, Department of Biliary-Hepatic Surgery, Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550001, Guizhou Province, China
Correspondence to: Ren-Yi Qin, Department of Biliary-Pancreatic Surgery, Tongji Hospital, Huazhong University of Science and Technology, 1095 Jiefang Avenue, Wuhan 430030, Hubei Province, China. ryqin@tjh.tjmu.edu.cn
Received: 2013-01-25 Revised: 2013-03-20
Accepted: 2013-04-07 Published online: 2013-04-28

Abstract

AIM: To investigate the role of rac1 in the proliferation of pancreatic carcinoma cells and to explore the possible mechanisms involved.

METHODS: The influence of rac1 on the proliferation of pancreatic carcinoma cells was detected by cell counting kit-8 (CCK-8) assay and EDU assay. Real-time PCR was employed to measure the expression of target genes of wnt-β-Catenin signaling pathway. Western blot and immunofluorescence were employed to measure the expression of β-Catenin in the cytoplasm and nucleus.

RESULTS: Disruption of rac1 activity by transfection with si-Rac1 or treatment with NSC23766 inhibited cell proliferation. Suppression of rac1 markedly down-regulated the mRNA expression of *c-myc* and *Cyclin D1* and slightly decreased the mRNA expression of *c-jun*. Rac1 knockdown did not affect β-Catenin stability in the cytoplasm but markedly reduced β-Catenin accumulation in the nucleus. Similar result was also obtained in immunofluorescence experiments.

CONCLUSION: Rac1 amplifies the wnt signaling pathway activity possibly by promoting β-Catenin accumulation in the nucleus and augments wnt target gene transcription in pancreatic carcinoma cells.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Rac1; Pancreatic carcinoma; Proliferation

Tian R, Guo XJ, Jiang JX, Wang M, Shi CJ, Xu M, Peng F, Li X, Qin RY. Role of rac1 in the proliferation of pancreatic carcinoma cells and possible mechanisms involved. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(12): 1070-1074 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1070.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1070

摘要

目的: 探讨RacGTP酶激活蛋白1(Rac GTPase activating protein1, Rac1)对胰腺癌细胞增殖的影响及其机制.

方法: 分别采用EDU和CCK-8(cell counting kit-8)方法检测Rac1对胰腺癌细胞增殖的影响; 采用Western blot、免疫荧光等试验探讨Rac1影响胰腺癌增殖的具体机制.

结果: Rac1可以促进胰腺癌细胞的增殖, 沉默Rac1或者Rac1特异性阻滞剂NSC23766可以抑制胰腺癌的增殖, 且进一步的机制研究发现Rac1通过促进β-Catenin进入细胞核, 上调wnt-β-Catenin信号通路靶基因*c-myc*、*c-jun*和*Cyclin D1*的表达, 进而促进胰腺癌细胞的增殖.

结论: Rac1通过wnt-β-Catenin信号通路促进胰

■同行评议者
巩鹏, 教授, 大连医科大学附属第一医院普外二科; 赵刚, 副教授, 协和医院胰腺病研究所

腺癌细胞的增殖.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: Rac1; **胰腺癌**; **增殖**

核心提示: RacGTP酶激活蛋白1(Rac GTPase activating protein1)通过促进β-Catenin进入细胞核, 上调wnt-β-Catenin信号通路靶基因*c-myc*、*c-jun*和*Cyclin D1*的表达, 进而促进胰腺癌细胞的增殖.

田锐, 郭兴军, 江建新, 王敏, 石程剑, 徐盟, 彭丰, 李旭, 秦仁义. Rac1对胰腺癌增殖的影响及其机制. 世界华人消化杂志 2013; 21(12): 1070-1074 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1070.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1070

0 引言

胰腺癌是消化系常见的恶性肿瘤之一. 胰腺癌也是根治性切除机会最少、预后最差的恶性肿瘤之一: 85%的患者在确诊时已属中晚期, 多伴有其他脏器肿瘤转移, 其中位生存期仅3-4 mo[1,2], 而且即使是接受胰腺癌根治性手术的患者, 其总体术后的5年生存率仅为5%左右. RacGTP酶激活蛋白1(Rac GTPase activating protein1, Racl)的被证实在多种肿瘤细胞系中表达且在肿瘤的发生发展中起到重要作用[3-6], 并已经成为药物开发的热点, 但Rac1与胰腺癌的关系尚不明确. 本研究将着重探讨Rac1在胰腺癌增殖中的作用.

1 材料和方法

1.1 材料 RPMI 1640培养基购自HyCone公司; 新生牛血清购自HyClone公司; TRIzol试剂购自Invitrogen公司; Reverse Transcription System试剂盒、SYBR Green Realtime PCR Master Mix购自TOYOBO公司; Cyclin D1、c-jun和c-myc引物由Invitrogen公司合成; 浓缩型兔抗人Rac1和β-Catenin多克隆抗体购自CST公司; Western blot相关试剂购自武汉博士德公司; ECL显色试剂盒购自碧云天公司; 全细胞蛋白提取试剂盒、BCA法测蛋白浓度试剂盒购自碧云天公司; EDU试剂盒购自锐博公司; CCK-8试剂盒购自碧云天公司; Rac1特异性siRNA由锐博公司合成; 转染试剂Lipofectamine 2000购自Invitrogen公司.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: 人胰腺癌细胞系BxPC-3为本实验室长期冷冻保存; 采用含10%新生牛血清的RPMI 1640培养基, 至37 ℃、50 mL/L CO_2培养箱内培养.

1.2.2 针对Rac1特异性siRNA转染: 接种适量细胞至六孔板, 确保第2天细胞约30%铺满, 采用Lipofectamine 2000转染, 24 h后更换新鲜培养基, 48 h检测细胞增殖情况, 72 h检测细胞蛋白水平的变化. siRNA靶向Rac1的序列是5'-TGAAGAAGAGGAAGAGAAA-3', siRNA上链序列是5'-UGAAGAAGAGGAAGAGAAAdTdT-3', 下链序列是3'-dTdTACUUCUUCUCCUUCUCUUU-5'.

1.2.3 细胞增殖检测: 细胞增殖采用EDU和CCK-8两种实验方法检测, 具体操作步骤按照试剂盒说明书.

1.2.4 Real-time PCR检测胰腺癌细胞系中Tiam1 mRNA的表达: 参照说明书, 用TRIzol试剂常规提取细胞总RNA. 按照逆转录试剂盒操作程序进行逆转录反应. 反应总体系为20 μL, 其中样品总RNA 2 μg、primer mix 1 μL、5×buffer 4 μL、enzyme 1 μL, 加DEPC水至20 μL, 37 ℃反应15 min, 98 ℃灭活5 min. 管家基因*GAPDH*为内对照. 通过相对荧光定量PCR方法, 对Tiam1和GAPDH进行检测, 计算出不同样本的目的基因相对表达量. 运用Primer 5.0设计引物, Cyclin D1的上游引物为5'-CCGTCCATGCGGAAGATC-3', 下游引物为5'-ATGGCCAGCGGGAAGAC-3'; c-jun上游引物5'-CCAGCCAGGTCGGCAGTAT-3', 下游引物5'-GGCAGTTAGAAGGTGAA-3'; c-myc上游引物5'-ATCACAGCCCTCACTCAC-3', 下游引物5'-ACAGATTCCACAAGGTGC-3'. 应用BIO-RAD定量PCR仪进行Real-time PCR实验, 反应条件为95 ℃ 5 s, 60 ℃ 15 s, 72 ℃ 15 s, 40个循环. 以Folds = $2^{-\triangle\triangle Ct}$表示实验组与对照组目的基因表达的倍数比关系, 重复3次实验, 计算平均值.

1.2.5 Western blot检测胰腺癌细胞系中Rac1和β-Catenin蛋白水平的表达: 细胞膜蛋白、细胞浆蛋白、细胞核蛋白提取采用上海生工全蛋白提取试剂盒(BSP003), 按照试剂盒说明书操作, BCA法测蛋白浓度. 样本加入10%SDS-PAGE凝胶进行电泳, 转膜至硝酸纤维素膜. Rac1一抗浓度为1∶1 000, β-Catenin一抗浓度为1∶1 000, 4 ℃孵育摇床过夜, 二抗(1∶2 000)37 ℃孵育1 h. ECL化学发光试剂盒显色、曝光、显影、定影.

1.2.6 免疫荧光化学方法检测胰腺癌细胞中的β-Catenin: 细胞爬片固定, 穿孔封闭, 孵育一抗过夜, β-Catenin抗体工作浓度为1∶100, 二抗的工作浓度为1∶100, 荧光显微镜照相分析.

■研发前沿
Rac1已经证实在多种肿瘤的增殖、侵袭转移中发挥着重要的作用, 但也存在着争议, 且Rac1相关的阻滞剂由于药物安全性的考虑, 并不能直接应用于临床, 需要进一步开发相关药物.

■相关报道
Bunogiomo发现Rac1可以协同β-Catenin进入细胞核, 促进wnt-β-Catenin信号通路靶基因转录, 进而促进细胞的增殖.

■创新盘点
本文首次证明了Rac1有促进胰腺癌细胞增殖的作用，并初步证明Rac1通过经典的wnt信号通路促进胰腺癌的增殖.

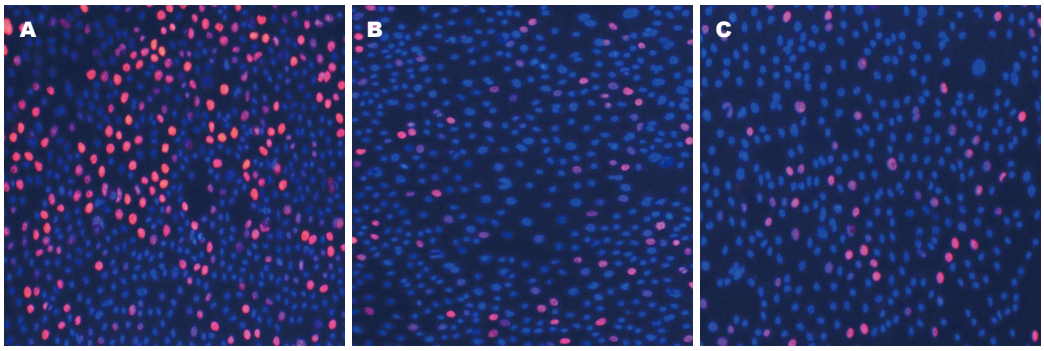


图 1 siRNA沉默Rac1或Rac1特异性阻滞剂对胰腺癌增殖的影响. A: 对照组; B: si-Rac1; C: NSC323766.

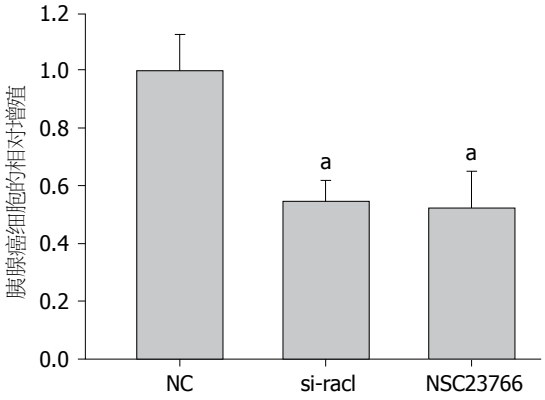


图 2 siRNA沉默Rac1或Rac1特异性阻滞剂对胰腺癌增殖的影响. $^aP<0.05$ *vs* NC. NC: 正常对照组.

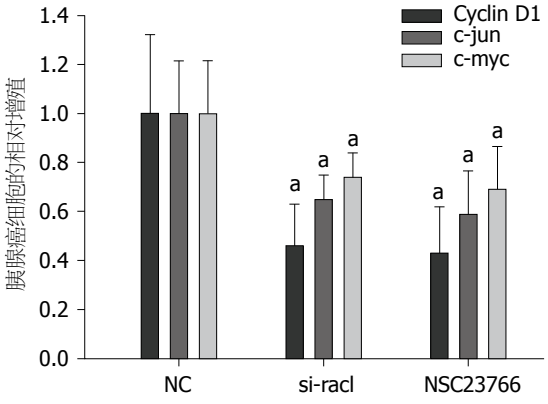


图 3 siRNA沉默*Rac1*或*Rac1*特异性阻滞剂对wnt-β-Catenin信号通路靶基因表达的影响. $^aP<0.05$ *vs* NC. NC: 正常对照组.

统计学处理 采用SPSS21.0软件包进行处理, PCR实验结果和CCK-8实验结果采用*t*检验, $P<0.05$具有统计学意义.

2 结果

EDU实验示在siRNA沉默Rac1或者Rac1特异性阻滞剂作用后, 胰腺癌细胞系BxPC-3增殖变慢. CCK-8实验示在siRNA沉默Rac1或者Rac1特异性阻滞剂作用后, 胰腺癌细胞系BxPC-3增殖变慢($P<0.05$). 由此可见, Rac1在胰腺癌细胞中活性水平与胰腺癌的增殖能力呈正相关(图1, 2).

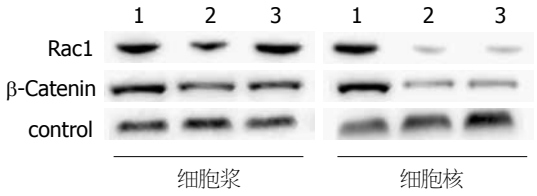


图 4 siRNA沉默Rac1或Rac1特异性阻滞剂作用对细胞浆和细胞核内β-Catenin表达量的影响. 1: NC; 2: si-racl; 3: NSC23766; NC: 正常对照组.

有文献报道Rac1在多种肿瘤中通过wnt-β-Catenin信号通路影响细胞的增殖[7,8], 于是我们首先检测在siRNA沉默Rac1或者运用Rac1特异性阻滞剂后, wnt-β-Catenin信号通路的靶基因*Cyclin D1*、*c-myc*和*c-jun*. 结果示在沉默Rac1或者Rac1特异性阻滞剂NSC23766作用后, wnt-β-Catenin信号通路的靶基因*Cyclin D1*($P<0.01$)、*c-myc*($P<0.05$)和*c-jun*($P<0.05$)表达明显下降, 尤其以*Cyclin D1*最为明显, 所以我们推测在胰腺癌中Rac1通过wnt-β-Catenin信号通路而影响胰腺癌细胞的增殖(图3).

β-Catenin进入细胞核是wnt-β-Catenin信号通路关键调节步骤, 且有文献报道Rac1可以协助β-Catenin进入细胞核[9,10]. 所以我们运用Western blot检测在siRNA沉默Rac1或者Rac1特异性阻滞剂作用后细胞浆和细胞核内β-Catenin的表达量, 结果示在siRNA沉默Rac1或者Rac1特异性阻滞剂作用后, 细胞浆内β-Catenin表达量没有明显的变化, 但细胞核内β-Catenin的表达量明显下降. 接着我们用免疫荧光实验进一步检测在siRNA沉默Rac1或者Rac1特异性阻滞剂作用后细胞膜、细胞浆和细胞核内β-Catenin的表达量, 结果示细胞浆内和细胞膜β-Catenin表达量没有明显的变化, 但细胞核内β-Catenin的表达量明显下降(图4, 5).

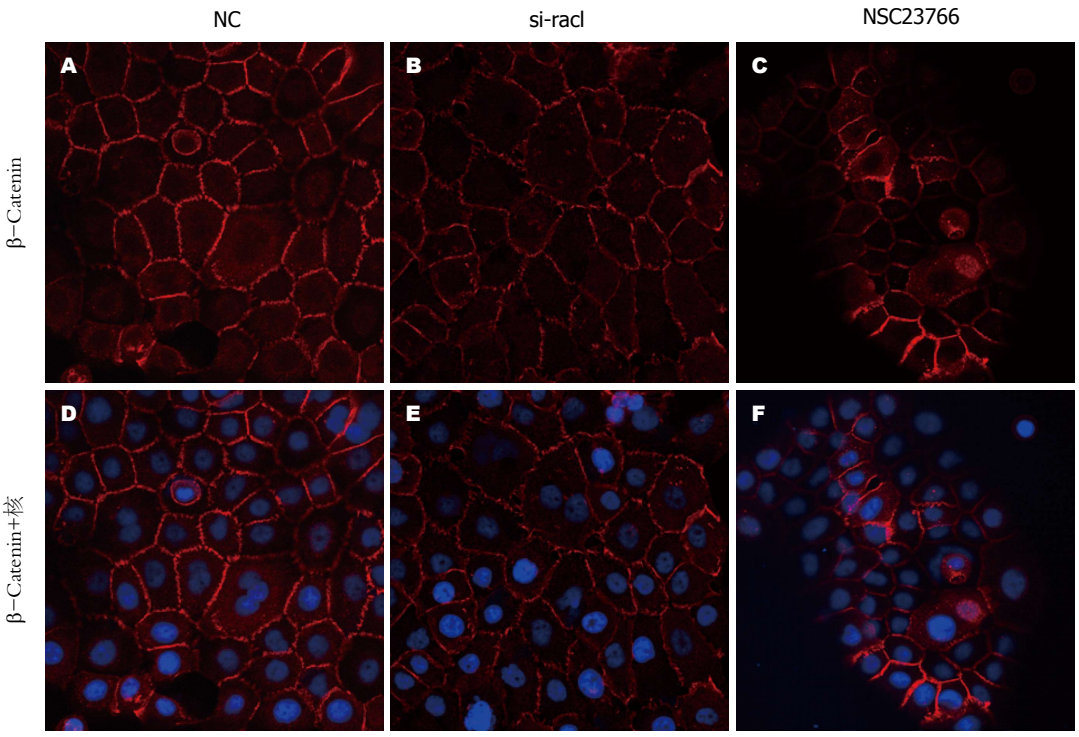


图 5 siRNA沉默Rac1或Rac1特异性阻滞剂作用对细胞膜、细胞浆和细胞核内β-Catenin表达量的影响. NC: 正常对照组.

■应用要点

本文对进一步阐述Rac1促进肿瘤的增殖起到积极的作用, 为进一步的药物开发提供了一定的理论依据.

3 讨论

*Rac1*基因全长29 kb, 包含7个外显子, 位于人染色体7p22. *Rac1*基因的转录产物有1.2 kb和2.5 kb两种. *Rac1*具有Rho类型的鸟苷三磷酸酶结合区, 与二磷酸鸟嘌呤核苷GDP和三磷酸鸟嘌呤核苷GTP具有高度的亲和性, 与GDP结合时失活, 与GTP结合时激活, Rac1的生物学功能发挥依赖于此两种活性形式间的转换[11-17]. Rac1蛋白在人类大部分肿瘤中没有发现突变体, 但在许多肿瘤中发现有活性增高、高表达现象. 在肺癌、结肠癌、胃癌、头颈部肿瘤等报道有Rac1蛋白表达的异常增高. 吴况鹏等[16]和高丹丹等[17]发现Rac1可以协同β-Catenin进入细胞核, 促进wnt-β-Catenin信号通路靶基因转录, 进而促进细胞的增殖. Rac1还可以通过PAK1等信号分子影响细胞的黏附特性.

本研究发现在胰腺癌细胞系中, Rac1蛋白有促进胰腺癌细胞增殖的作用, 沉默Rac1或者运用Rac1特异性阻滞剂均可以抑制胰腺癌的细胞的增殖. 目前研究证实Rac1可以调节细胞的增殖, Rac1在结肠癌、乳腺癌、胃癌的发生发展中起到重要作用, 与肝癌、前列腺癌等肿瘤的预后有明确关系[18,19], 在Rac1高表达的病例中, 患者的预后明显较差. 这都说明Rac1在各种肿瘤的发生发展的各个时期都起到重要的作用. 本实验研究提示, 沉默Rac1或者Rac1特异性阻滞剂NSC23766可以抑制胰腺癌的增殖, 与文献报道的结果一致.

我们进一步研究发现Rac1是通过促进β-Catenin进入细胞核, 激活wnt-β-Catenin信号通路, 促进wnt-β-Catenin信号通路靶基因的转录, 进而促进胰腺癌细胞的增殖. 既往在结肠癌和乳癌中都有报道, 活化的Rac1可以协同β-Catenin进入细胞核, 促进wnt信号通路靶基因的转录, 进而促进肿瘤的发生发展[14]. wnt-β-Catenin信号通路是当wnt蛋白于细胞表面Frizzled受体家族结合后的一系列反应, 包括Dishevelled受体家族蛋白质的激活及最终细胞核内β-Catenin水平的变化. 当“β-Catenin降解复合物”被抑制后, 胞浆内的β-Catenin得以稳定存在, 部分β-Catenin进入细胞核与TCF/LEF转录因子家族作用并促进特定基因的表达. 本研究进一步地证明了Rac1在胰腺癌中也是通过wnt-β-Catenin信号通路作用, 促进胰腺癌的增殖[8,20-22].

胰腺癌的早期诊断对改善患者的预后非常关键, 但目前缺乏能有效早期辅助诊断的指标. Rac1可以促进胰腺癌细胞的增殖, 很有可能在胰腺癌的发生发展过程中发挥重要的作用. 本实验研究提示, 沉默Rac1或者Rac1特异性阻滞剂NSC23766可以抑制胰腺癌的增殖, 为下一步治疗胰腺癌药物的开发奠定了一定的基础.

■同行评价
本文首次阐述了Rac1在胰腺癌发病中的作用, 并初步探讨了其机制, 有一定的创新性和实用性.

4 参考文献

1 刘民培, 马景云, 潘伯荣. 中国胰腺癌的研究. 世界华人消化杂志 2001; 9: 1103-1109
2 Cui Y, Andersen DK. Diabetes and pancreatic cancer. *Endocr Relat Cancer* 2012; 19: F9-F26 [PMID: 22843556]
3 吴明富, 史艳燕, 韩志强, 刘玉兰, 卢运萍, 马丁. 人卵巢癌组织中Tiam1和Rac1的表达与肿瘤侵袭转移的关系. 中国肿瘤临床 2005; 32: 910-914
4 郭世洲, 原禄双, 张俊华. Rac1、Cdc42在肿瘤方面的研究. 医学综述 2007; 13: 821-823
5 陈保东, 徐如祥, 高永中, 姜晓丹, 蒋大鹏, 丁建军. Rac1基因沉默对髓母细胞瘤细胞侵袭移动的影响. 中华实验外科杂志 2010; 27: 923-925
6 Goc A, Abdalla M, Al-Azayzih A, Somanath PR. Rac1 activation driven by 14-3-3ζ dimerization promotes prostate cancer cell-matrix interactions, motility and transendothelial migration. *PLoS One* 2012; 7: e40594 [PMID: 22808202 DOI: 10.1371/journal.pone.0040594]
7 Wu X, Tu X, Joeng KS, Hilton MJ, Williams DA, Long F. Rac1 activation controls nuclear localization of beta-catenin during canonical Wnt signaling. *Cell* 2008; 133: 340-353 [PMID: 18423204 DOI: 10.1016/j.cell.2008.01.052]
8 Buongiorno P, Pethe VV, Charames GS, Esufali S, Bapat B. Rac1 GTPase and the Rac1 exchange factor Tiam1 associate with Wnt-responsive promoters to enhance beta-catenin/TCF-dependent transcription in colorectal cancer cells. *Mol Cancer* 2008; 7: 73 [PMID: 18826597 DOI: 10.1186/1476-4598-7-73]
9 Esufali S, Bapat B. Cross-talk between Rac1 GTPase and dysregulated Wnt signaling pathway leads to cellular redistribution of beta-catenin and TCF/LEF-mediated transcriptional activation. *Oncogene* 2004; 23: 8260-8271 [PMID: 15377999 DOI: 10.1038/sj.onc.1208007]
10 Esufali S, Charames GS, Bapat B. Suppression of nuclear Wnt signaling leads to stabilization of Rac1 isoforms. *FEBS Lett* 2007; 581: 4850-4856 [PMID: 17888911 DOI: 10.1016/j.febslet.2007.09.013]
11 Durán RV, Hall MN. Regulation of TOR by small GTPases. *EMBO Rep* 2012; 13: 121-128 [PMID: 22240970 DOI: 10.1038/embor.2011.257]
12 Wertheimer E, Gutierrez-Uzquiza A, Rosemblit C, Lopez-Haber C, Sosa MS, Kazanietz MG. Rac signaling in breast cancer: a tale of GEFs and GAPs. *Cell Signal* 2012; 24: 353-362 [PMID: 21893191 DOI: 10.1016/j.cellsig.2011.08.011]
13 魏世平, 王克猛. 结直肠癌中Rac1的表达研究. 河北医药 2011; 33: 3701-3702
14 顾颖, 韩素萍, 张晔. RhoA、RAC1在宫颈癌组织中的表达及其临床意义. 苏州大学学报(医学版) 2008; 28: 115-118
15 南清振, 高蕾, 张振书. Rac1活化在大肠癌细胞SW480迁移侵袭中的作用. 中华肿瘤杂志 2007; 29: 666-669
16 吴况明, 蒋良友. Rac1和Pak1在胃癌中的表达及意义. 国际病理科学与临床杂志 2010; 30: 469-472
17 高丹丹, 续薇, 刘力华, 张明威, 罗微. 荧光定量RT-PCR检测Rac1 mRNA基因及其与胃癌转移的关系. 中华检验医学杂志 2010; 33: 502-506
18 黄娟, 郎楠, 刘明, 陈济, 周继陶, 朱亚杰, 刘素蕊, 唐秋琳, 陈向征, 毕锋, Rac1小干扰RNA对胃肠道肿瘤细胞恶性生物学行为的影响. 四川大学学报(医学版) 2009; 40: 588-592
19 张淑平, 代嘉莉, 徐州. Rac1和MMP-2在胃癌组织中的表达及其与胃癌浸润转移的关系. 四川医学 2010; 31: 1232-1234
20 王燕忠, 王继英 唐克晶, 王敏, 邢海燕, 田征, 饶青. Rac1介导E-cadherin下调引起的白血病细胞行为改变. 中国病理生理杂志 2010; 26: 1670-1673
21 陈保东, 高永中, 蒋太鹏, 丁建军, 姜晓丹, 徐如祥. Rac1在垂体腺瘤组织中的表达及意义. 中国微侵袭神经外科杂志 2010; 15: 268-270
22 钟大平, 周进明, 章容, 周琪, 彭秋平, 梁后杰. Tiam1和Rac1在大肠癌组织中的表达及其临床意义. 中华肿瘤防治杂志 2007; 14: 129-132

编辑 田滢 电编 闫晋利

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

本刊讯 2011-12-02, 中国科学技术信息研究所在北京发布2010年中国科技论文统计结果, 经过中国精品科技期刊遴选指标体系综合评价, 《世界华人消化杂志》被评为2011年度中国精品科技期刊. 中国精品科技期刊以其整体的高质量示范作用, 带动我国科技期刊学术水平的提高. 精品科技期刊的遴选周期为三年. (《世界华人消化杂志》编辑部)

世界华人消化杂志 2013年4月28日; 21(12): 1075-1079
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

经内镜逆行性胰胆管造影术后胰腺炎的影响因素

袁伟燕, 陆翠华

袁伟燕, 陆翠华, 南通大学附属医院消化内科 江苏省南通市 226001
袁伟燕, 主治医师, 主要从事消化内科方面的研究.
作者贡献分布: 本文由袁伟燕与陆翠华共同完成.
通讯作者: 袁伟燕, 主治医师, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院消化内科. ywydoc@ntu.edu.cn
传真: 0513-85154406
收稿日期: 2012-12-27 修回日期: 2013-03-14
接受日期: 2013-04-12 在线出版日期: 2013-04-28

Risk factors for post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis

Wei-Yan Yuan, Cui-Hua Lu

Wei-Yan Yuan, Cui-Hua Lu, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China
Correspondence to: Wei-Yan Yuan, Attending Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China. ywydoc@ntu.edu.cn
Received: 2012-12-27 Revised: 2013-03-14
Accepted: 2013-04-12 Published online: 2013-04-28

Abstract

AIM: To investigate potential risk factors for pancreatitis after endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP).

METHODS: One hundred and sixty patients who underwent ERCP were enrolled in this retrospective study. Clinical data, including age, gender, history of pancreatitis, juxtapapillary diverticulum, dilatation of the common bile duct, multiple cannulation attempts, multiple opacification of the pancreatic duct and endoscopic sphincterotomy, were collected and analyzed to assess their relationship with the development of post-ERCP pancreatitis.

RESULTS: History of pancreatitis (P = 0.003, P = 0.0014), juxtapapillary diverticulum (P = 0.013, P = 0.0137), multiple cannulation attempts (P = 0.013, P = 0.0010), and multiple pancreatic duct opacification (P = 0.000, P = 0.0000) were found to be independent risk factors for post-ERCP pancreatitis. However, these four factors showed no obvious difference among patients with mild, moderate or severe pancreatitis (P > 0.05). Gender, age, dilatation of common bile-duct and papillotomy did not significantly affect the occurrence of post-ERCP pancreatitis (P > 0.05).

CONCLUSION: History of pancreatitis, juxtapapillary diverticulum, multiple cannulation attempts and multiple pancreatic duct opacification are risk factors for post-ERCP pancreatitis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Endoscopic retrograde cholangiopancreatography; Risk factors; Post-ERCP pancreatitis

Yuan WY, Lu CH. Risk factors for post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(12): 1075-1079 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1075.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1075

摘要

目的: 探讨经内镜逆行性胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)后胰腺炎产生的影响因素.

方法: 对160例ERCP患者进行回顾性研究其年龄、性别、有无胰腺炎病史、有无十二指肠乳头旁憩室(juxtapapillary diverticulum, JPD)、有无胆总管扩张、有无多次插管、有无多次胰管显影、乳头肌切开等, 将以上情况与术后胰腺炎的关系进行评价.

结果: 有胰腺炎病史(P = 0.003, P = 0.0014)、JPD(P = 0.013, P = 0.0137)、多次插管(P = 0.013, P = 0.0010)、多次胰管显影(P = 0.000, P = 0.0000)等均明显增加了ERCP后胰腺炎的发生; 4种因素均是PEP有关的独立风险因素. 4种风险因素与ERCP后胰腺炎的轻、中、重程度之间无明显差异(均P>0.05). 性别、年龄、胆总管扩张、乳头肌切开等因素均未明显影响ERCP后胰腺炎的发生(均P>0.05).

■背景资料
经内镜逆行性胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)是目前公认的诊断胰胆管疾病的金标准, 在其基础上介入治疗是胆胰疾病微创治疗的发展趋势.

■同行评议者
刘颖斌, 主任医师, 上海交通大学医学院附属新华医院

■研发前沿
既往胰腺炎病史、多次插管、胰管多次显影等都是ERCP后胰腺炎(post-ERCP pancreatitis, PEP)的风险因素.

结论: 有胰腺炎病史、JPD、多次插管、多次胰管显影是ERCP后胰腺炎的独立危险因素.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 经内镜逆行性胰胆管造影术; 危险因素; 经内镜逆行性胰胆管造影术后胰腺炎

核心提示: 本研究发现, 既往有胰腺炎病史、乳头旁憩室(juxtapapillary diverticulum, JPD)、多次插管及多次胰管显影等是经内镜逆行性胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)后胰腺炎(post-ERCP pancreatitis, PEP)的4个独立风险因素. 基于此研究结果, 建议对临床上实施ERCP的病例选择时, 须注意有胰腺炎病史的或有JPD的患者, 应谨慎选择; 在进行ERCP操作时, 应注意尽量减少插管次数, 尽量减少胰管显影并避免高压注射造影剂, 从而尽可能减少PEP的发生.

袁伟燕, 陆翠华. 经内镜逆行性胰胆管造影术后胰腺炎的影响因素. 世界华人消化杂志 2013; 21(12): 1075-1079 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1075.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1075

0 引言

经内镜逆行性胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)已广泛应用于胆胰疾病的诊断与治疗. 尤其治疗性ERCP相比外科手术具有创伤小恢复快等优点. 但同时也潜在一些并发症可能, 包括ERCP后胰腺炎(post-ERCP pancreatitis, PEP)、高淀粉酶血症、胆道感染、出血、穿孔等. 其中PEP是其常见的并发症之一, 发生率各家报道不一, 有研究报道PEP的发病率在5%左右[1,2]. 绝大多数PEP为轻症胰腺炎, 但有10%左右的PEP有可能发展为重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP), 甚至引起死亡. 因此, 有必要对PEP相关危险因素进行研究以尽量减少PEP的发生. 本文旨在通过对我院2009-07/2012-04所有ERCP操作做一回顾性分析, 从中找出PEP可能的危险因素, 为PEP的防治提供依据.

■相关报道
Vandervoort等对1223例ERCP患者进行前瞻性、单中心研究, 通过单变量分析显示, PEP的5个独立的危险因子为: 复发性胰腺炎、既往有ERCP术后胰腺炎病史者、术中多次插管、胰管刷检、ERCP术中疼痛.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2009-07/2012-04在南通大学附属医院拟行ERCP患者160例(胆总管结石153例、胆总管癌2例、壶腹部癌4例、胆总管瘘1例), 其中男63例, 女97例, 年龄21-88岁, 平均62.8岁, <60岁98例, ≥60岁62例; 其他相关临床参数包括: 胰腺炎史(有: 15例; 无: 145例)、乳头旁憩室(juxtapapillary diverticulum, JPD)(有: 37例; 无: 123例)、胆总管扩张(轻度: 42例; ≥10 mm: 91例; 不扩张: 27例)、插管失败(有: 10例; 无: 150例)、胰管显影(有: 14例; 无: 146例)、内镜下括约肌切开术(endoscopic sphincterotomy, EST)(有: 147例; 无: 13例). 所有患者术前检查血清淀粉酶均在正常范围内.

1.2 方法

1.2.1 PEP的判断与分级: 根据Cotton等[1]定义, ERCP后出现持续腹痛且血清淀粉酶高于正常上限的3倍, 持续24 h以上, 同时排除胃肠道穿孔、残余结石嵌顿、急性胆囊炎、急性胆管炎等, 可诊断为PEP. 但有研究发现, 仅根据Cotton定义诊断PEP会产生诊断不足, 结合临床诊断胰腺炎标准可以弥补诊断标准上的不足, 使PEP的诊断更趋标准化[3]. 因此, 本研究采用Cotton定义结合临床诊断胰腺炎标准对所有病例进行规范化诊断. 对于仅有血清淀粉酶高于正常而无腹痛、恶心、呕吐及腹部压痛者诊断为高淀粉酶血症. 根据Cotton共识意见[1], 将PEP分为轻、中、重3级: (1)轻症PEP: 临床PEP患者, 需入院治疗或较原计划住院时间延长2-3 d; (2)中度PEP: PEP患者, 需住院治疗4-10 d; (3)重症PEP: PEP需住院治疗10 d以上, 出现局部和/或全身并发症, 需转ICU治疗或采用侵入性治疗(比如外科手术). 在160例ERCP中, 成功率93.75%(150/160), 并发高淀粉酶血症129例(发生率80.63%), 并发胰腺炎17例(发生率10.63%), 轻症PEP共10例, 占58.82%; 中度PEP共5例,占29.41%; 重症PEP仅2例, 占11.76%.

1.2.2 资料收集: 对160例ERCP患者的年龄、性别、是否有胰腺炎病史、有无JPD、是否多次插管失败、是否多次胰管显影、有无胆总管扩张、是否行EST以及并发不同程度PEP等进行统计.

统计学处理 Stata8.0统计软件对结果进行统计分析. 采用两种统计方法分析PEP发生与各参数间的关系: PEP在各参数组总发生率的比较采用χ^2检验或Fisher's exact法; 轻、中、重度PEP在各参数组间的差异采用秩和检验分析. 对有统计学差异的参数组中轻、中、重症PEP发生率的两两比较采用χ^2检验或Fisher's exact法. 经单因素分析发现PEP可能的风险因素再用Logistic多因素回归分析, 得出OR值及*P*值. 以上统计学分析, 均以$P<0.05$认为有统计学意义.

2 结果

既往有胰腺炎病史、有十二指肠JPD、术中多

表 1 PEP总发生率及不同发病程度(轻、中、重)与各临床参数间的关系分析

临床参数	*n*	总发生率*n*(%)	*P*值[1]	轻症PEP(*n*)	中度PEP(*n*)	重症PEP(*n*)	*P*值[2]
性别			0.716				0.6522
男	63	6(9.5)		5	1	0	
女	97	11(11.3)		5	4	2	
年龄(岁)			0.403				0.4241
<60	98	12(12.2)		8	2	2	
≥60	62	5(8.1)		2	3	0	
胰腺炎史			0.003				0.0014
有	15	5(33.3)		1	2	2	
无	145	12(8.3)		9	3	0	
乳头旁憩室			0.013				0.0137
有	37	8(18.9)		4	3	1	
无	123	9(8.1)		6	2	1	
胆总管扩张			0.458				0.3722
轻度	42	4(9.5)		1	1	2	
≥10 mm	91	12(13.2)		8	4	0	
不扩张	27	1(3.7)		1	0	0	
多次插管			0.013				0.0010
有	10	4(40.0)		1	1	2	
无	150	13(8.7)		9	4	0	
胰管多次显影			0.000				0.0000
有	14	6(42.9)		2	2	2	
无	146	11(7.5)		8	3	0	
EST			1.000				0.7569
有	147	16(10.9)		10	4	2	
无	13	1(7.7)		0	1	0	

[1]*P*值计算采用χ^2检验或Fisher's exact法; [2]*P*值计算采用秩和检验. PEP: ERCP后胰腺炎; EST: 内镜下括约肌切开术.

■创新盘点

本文在讨论PEP的可能风险因素的同时, 将不同发病程度(轻、中、重)与各临床参数间的关系作了详细的分析, 发现胰腺炎史、乳头旁憩室(juxtapapillary diverticulum, JPD)、多次插管失败、胰管多次显影4种风险因素中, 轻、中、重症PEP发生率间无明显差异.

次插管、术中胰管多次显影相应的PEP总发生率分别为33.3%(5/15, 轻、中、重症分别为1例、2例、2例)、18.9%(8/37, 轻、中、重症分别为4例、3例、1例)、40.0%(4/10, 轻、中、重症分别为1例、1例、2例)、42.9%(6/14, 轻、中、重症分别为2例、2例、2例), 均明显高于相应的无胰腺炎病史患者(8.3%)、无十二指肠JPD患者(8.1%)、术中未多次插管患者(8.7%)及术中胰管未多次显影患者(7.5%). 两种统计学方法分析均显示差异有统计学意义(均$P<0.05$). 且在有胰腺炎史、JPD、多次插管失败、胰管多次显影四种风险因素中, 轻、中、重症PEP发生率间无明显差异(均$P>0.05$, 表1).

对表1中经单因素分析发现与PEP有关的4个风险因素进行多因素Logistic回归分析, 结果表明4个风险因素(有胰腺炎病史、有十二指肠JPD、多次插管、反复胰管显影)均有统计学意义(均$P<0.05$, 表2).

3 讨论

ERCP作为诊断和治疗胆胰疾病的一种重要手段, 其应用的日趋成熟加速了诊断性及治疗性ERCP的开展, 自从1974年Kawai等首次应用EST以来, 治疗性ERCP已逐渐成为胆胰疾病重要的内镜介入治疗技术. 但由于ERCP本身的特点加上操作及患者等各方面的因素, ERCP术中及术后会产生一些并发症, PEP是ERCP术后最常见的并发症之一. 鉴于PEP有可能加重甚至引起死亡等危险, 临床医师有必要对其发生的风险因素进行探索以期尽量规避风险、减少PEP的发生.

有研究认为, 女性、有胰腺炎病史、困难插管、插管时间≥10 min、术中胰管显影≥5次、十二指肠乳头肌球囊扩张或预切开等均会增加PEP的发生[4]. 且具有以上多个危险因素者PEP的潜在发生率大大增高[2,5]. Vandervoort等[6]对1 223例ERCP患者进行前瞻性、单中心研究, 通过单变量分析显示, PEP具有统计学意义的危险

■名词解释
经内镜逆行性胰胆管造影术: 在内镜下经十二指肠乳头插管注入造影剂, 从而逆行显示胰胆管的造影技术, 是目前公认的诊断胰胆管疾病的金标准.

表 2 临床因素与PEP的多因素分析

临床参数	OR值	P值
胰腺炎史	2.7	0.018
乳头旁憩室	3.0	0.006
多次插管	3.9	0.043
反复胰管显影	3.8	0.041

因素有18个, 但经多变量Logistic回归分析发现PEP的5个独立的危险因子为: 复发性胰腺炎、既往有ERCP术后胰腺炎病史者、术中多次插管、胰管刷检、ERCP术中疼痛. 本研究发现, 既往有胰腺炎病史、JPD、多次插管及多次胰管显影等均是PEP的风险因素.

胰腺炎病史及JPD均为患者相关的风险因素, 对于ERCP指征的选择和术前风险评估有一定的参考价值. 李兆申等[7]报道,有胰腺疾病基础的患者ERCP术后胰腺炎发生率(8.5%)显著高于对照组(3.5%). Cheng等[8]研究发现, 有过PEP病史是再次发生PEP的风险因素. 本组资料显示, 既往有胰腺炎病史患者PEP发生率达33.3%, 相比无胰腺炎病史患者有明显差别(P = 0.003, P = 0.0014), 提示胰腺炎病史是PEP的风险因素之一. 究其原因, 可能与胰腺局部及其周围解剖结构及其他方面体质决定了其易患胰腺炎有关. JPD指憩室发生的部位距乳头开口2-3 cm内, 多属于原发性腔外型憩室, 根据憩室与乳头位置、远近关系, 分为憩室内乳头、憩室边缘乳头及憩室周围乳头. 有学者认为JPD与胰腺炎的发生密切相关, Uomo等[9]报道特发性胰腺炎在JPD阳性患者中的发生率(13.7%)显著高于在JPD阴性患者发病率(1.8%). 本组资料显示, 有JPD患者PEP发生率达18.9%, 与没有JPD患者相比有明显差别(P = 0.013, P = 0.0137), 说明JPD是PEP发生的风险因素之一. 其可能的原因为: 憩室患者Oddis括约肌功能障碍及憩室内食物填塞使其扩张压迫胰管远端致胰管内压力升高.

多次插管指插管次数>5次, 插管次数多少与操作者本身的技能有关, 属于操作相关的风险因素. Vandervoort等[6]发现, ERCP操作中插管少于5次者, PEP的发生率仅3.3%, 而插管多于20次者, PEP发生率上升至14.9%. 近十余年的很多研究发现, 插管困难是引发PEP的独立危险因素[2,6,10]. Testoni等[11]研究认为, 在操作相关的危险因素中, 多次插管相对预切开, 后者在早期(少于10次的插管)较反复多次插管更安全. 本研究发现, 多次插管失败患者发生PEP的几率达到40%, 与没有多次插管患者相比差别有显著性(P = 0.013, P = 0.0010), 证实多次插管是PEP的风险因素之一. 究其原因, 可能与多次插管后Oddi氏括约肌痉挛, 十二指肠乳头局部水肿, 胰管内压力升高, 影响胆汁及胰液排泌等有关.

胰管多次显影指>5次显影, 亦属于操作相关的风险因素. 有荟萃分析发现, 胰管显影是PEP最重要的两大操作相关的危险因素之一[5,12]. 本组资料结果显示, 胰管多次显影患者发生PEP的几率为42.9%, 与没有显影患者相比差异有显著性(P = 0.000, P = 0.0000), 说明多次胰管显影是PEP的风险因素. 可能机制为: (1)胰管内高压注射致胰管细胞及腺泡细胞损伤, 使胰管内胰液流入胰腺实质, 胰酶原被激活引起自身消化; (2)胰管内高压影响了胰液排出, 使胰液在腺泡细胞内提前激活. 胰管显影者PEP发生率各家报道不一, 赵铭宁等[13]通过回顾性分析2 824例ERCP患者发现, 胰管显影后PEP发生率为25.12%. 造成这种发生率差别较大的原因可能与胰管显影范围大小有关, 有研究表明, 胰管体部显影比仅仅胰管头部显影PEP发生率高, 而整个胰管及腺泡全部显影者PEP发生率更高[14]. 因此, ERCP操作过程中尽量避免胰腺造影及注意注射造影剂的量与注射速度等有助于降低PEP的发生率.

ERCP作为内镜下微创诊疗手段, 其应用价值已得到认可; 但其潜在PEP等并发症风险应引起重视. 孙广正等[15]通过多因素分析发现, 患者自身的高危因素和操作者的经验、技术都可以影响PEP的发生率, 对高危患者应避免诊断性ERCP, 尽可能选择CT或磁共振胰胆管成像(magnetic resonance cholangiopancreatography, MRCP)等方法明确诊断. 对有胰腺炎病史, 尤其是复发性胰腺炎或有过PEP病史的患者, 对ERCP的选择须慎重. 对有十二指肠JPD患者, 亦应斟酌后决定是否实施该操作; 或者可以考虑用MRCP替代ERCP从而避免医源性胰腺炎发生. 此外, 主观上, 努力提高医师的ERCP操作技术水平, 尽量减少插管次数, 尽可能避免胰管显影和反复高压注药, 根据导丝插入的方向来判断是否胆管或胰管, 可以在很大程度上减少PEP的发生. 总之, 尽量避免患者相关的和操作相关的风险因素, 可以减少PEP的发生, 从而推进ERCP诊疗技术的进一步发展.

4 参考文献

1 Cotton PB, Lehman G, Vennes J, Geenen JE, Russell RC, Meyers WC, Liguory C, Nickl N. Endoscopic sphincterotomy complications and their management: an attempt at consensus. *Gastrointest Endosc* 1991; 37: 383-393 [PMID: 2070995]

2 Freeman ML, DiSario JA, Nelson DB, Fennerty MB, Lee JG, Bjorkman DJ, Overby CS, Aas J, Ryan ME, Bochna GS, Shaw MJ, Snady HW, Erickson RV, Moore JP, Roel JP. Risk factors for post-ERCP pancreatitis: a prospective, multicenter study. *Gastrointest Endosc* 2001; 54: 425-434 [PMID: 11577302]

3 Artifon EL, Chu A, Freeman M, Sakai P, Usmani A, Kumar A. A comparison of the consensus and clinical definitions of pancreatitis with a proposal to redefine post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis. *Pancreas* 2010; 39: 530-535 [PMID: 20093992 DOI: 10.1097/MPA.0b013e3181c306c0]

4 张文杰, 陶怡菁, 全志伟. ERCP术后胰腺炎的预防. 中华消化内镜杂志 2010; 27: 670-672

5 Masci E, Mariani A, Curioni S, Testoni PA. Risk factors for pancreatitis following endoscopic retrograde cholangiopancreatography: a meta-analysis. *Endoscopy* 2003; 35: 830-834 [PMID: 14551860]

6 Vandervoort J, Soetikno RM, Tham TC, Wong RC, Ferrari AP, Montes H, Roston AD, Slivka A, Lichtenstein DR, Ruymann FW, Van Dam J, Hughes M, Carr-Locke DL. Risk factors for complications after performance of ERCP. *Gastrointest Endosc* 2002; 56: 652-656 [PMID: 12397271]

7 李兆申, 许国铭, 钱煦岱, 孙振兴. 胰腺疾病患者ERCP术后并发高淀粉酶血症及急性胰腺炎临床对比研究. 中华消化内镜杂志 1999; 16: 75-77

8 Cheng CL, Sherman S, Watkins JL, Barnett J, Freeman M, Geenen J, Ryan M, Parker H, Frakes JT, Fogel EL, Silverman WB, Dua KS, Aliperti G, Yakshe P, Uzer M, Jones W, Goff J, Lazzell-Pannell L, Rashdan A, Temkit M, Lehman GA. Risk factors for post-ERCP pancreatitis: a prospective multicenter study. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 139-147 [PMID: 16405547]

9 Uomo G, Manes G, Ragozzino A, Cavallera A, Rabitti PG. Periampullary extraluminal duodenal diverticula and acute pancreatitis: an underestimated etiological association. *Am J Gastroenterol* 1996; 91: 1186-1188 [PMID: 8651168]

10 Zhou W, Li Y, Zhang Q, Li X, Meng W, Zhang L, Zhang H, Zhu K, Zhu X. Risk Factors for Postendoscopic Retrograde Cholangiopancreatography Pancreatitis: A Retrospective Analysis of 7168 Cases. *Pancreatology* 2011; 11: 399-405 [PMID: 21894057]

11 Testoni PA, Mariani A, Giussani A, Vailati C, Masci E, Macarri G, Ghezzo L, Familiari L, Giardullo N, Mutignani M, Lombardi G, Talamini G, Spadaccini A, Briglia R, Piazzi L. Risk factors for post-ERCP pancreatitis in high- and low-volume centers and among expert and non-expert operators: a prospective multicenter study. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 1753-1761 [PMID: 20372116 DOI: 10.1038/ajg.2010.136]

12 黄应龙, 苏秉忠, 李晓华. ERCP术后胰腺炎相关危险因素探讨. 现代消化及介入诊疗 2006; 11: 205-207

13 赵铭宁, 杨勇, 张文杰, 王雪峰, 顾钧, 庄敏. ERCP后胰腺炎影响因素分析. 肝胆胰外科杂志 2010; 22: 389-394

14 Cheon YK, Cho KB, Watkins JL, McHenry L, Fogel EL, Sherman S, Lehman GA. Frequency and severity of post-ERCP pancreatitis correlated with extent of pancreatic ductal opacification. *Gastrointest Endosc* 2007; 65: 385-393 [PMID: 17321236]

15 孙广正, 施正超, 戴华卫. ERCP后胰腺炎高危因素的回顾性研究. 浙江创伤外科 2009; 14: 519-520

■同行评价

本文探讨ERCP后胰腺炎的影响因素, 数据可靠, 结论可信, 对临床有一定的指导意义.

编辑 李军亮 电编 闫晋利

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费. 审稿周期及发表周期不变. (《世界华人消化杂志》编辑部)

世界华人消化杂志 2013年4月28日; 21(12): 1080-1089
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

散发性结直肠癌组织病理学特征及微卫星不稳定状态分析400例

李新霞, 胡晓杰, 吴 涛, 胡昌明, 徐 炜, 李洪波, 赵 彤

■背景资料
高度微卫星不稳定性(high level of microsatellite instability, MSI-H)结直肠癌患者具有独特临床特征及生物学行为, 识别MSI-H结直肠癌对患者选择个体化治疗方案及制定规范化随访制度具有重要临床意义.

李新霞, 南方医科大学与广州市海珠区科技产业园联合培养博士后工作站 广东省广州市 510515
李新霞, 新疆医科大学第一附属医院病理科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054
胡晓杰, 吴涛, 胡昌明, 徐炜, 李洪波, 广州金域医学检验中心病理科 广东省广州市 510330
赵彤, 南方医科大学附属南方医院病理科 广东省广州市 510515
广东省科技厅对外国际合作基金资助项目, No. 2011B0500 0010
新疆维吾尔自治区科技计划基金资助项目, No. 201233142
作者贡献分布: 李新霞与胡晓杰对此文所作贡献均等; 此课题由李新霞设计; 研究过程由李新霞、胡晓杰、吴涛、徐炜及胡昌明完成; 研究所用新试剂及分析工具由李洪波提供; 本论文写作由李新霞完成; 论文修改由赵彤完成.
通讯作者: 赵彤, 教授, 主任医师, 510515, 广州市广州大道北路1838号, 南方医科大学附属南方医院病理科.
tongzhao@fimmu.com
收稿日期: 2012-11-06 修回日期: 2013-03-05
接受日期: 2013-04-12 在线出版日期: 2013-04-28

■同行评议者
王娅兰, 教授, 重庆医科大学基础医学院病理教研室

Histopathologic features and microsatellite instability of sporadic colorectal carcinoma: An analysis of 400 cases

Xin-Xia Li, Xiao-Jie Hu, Tao Wu, Chang-Ming Hu, Wei Xu, Hong-Bo Li, Tong Zhao

Xin-Xia Li, Postdoctoral Workstation, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China
Xin-Xia Li, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Xiao-Jie Hu, Tao Wu, Chang-Ming Hu, Wei Xu, Hong-Bo Li, Department of Pathology, the Kingmed Medical Center, Guangzhou 510330, Guangdong Province China
Tong Zhao, Department of Pathology, Affiliated Southern Hospital of Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China
Supported by: the International Cooperation Project of the Science and Technology of Guangdong Province, No. 2011B0500010; and the Science and Technology Program of Xinjiang Uygur Autonomous Region, No. 201233142
Correspondence to: Tong Zhao, Professor, Chief Physician, Department of Pathology, Affiliated Southern Hospital of Southern Medical University, 1838 North Road, Guangzhou Avenue, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China. tong-zhao@fimmu.com
Received: 2012-11-06 Revised: 2013-03-05
Accepted: 2013-04-12 Published online: 2013-04-28

Abstract

AIM: To investigate the clinicopathologic features of sporadic colorectal carcinoma with high level of microsatellite instability (MSI-H), detect deficient expression of DNA mismatch repair protein, predict tumor microsatellite instability (MSI) status, and create a platform for diagnosis and screening of genetic colorectal carcinoma.

METHODS: Clinical data for 400 cases of sporadic colorectal carcinoma were analyzed. All cases underwent histological assessment. The deficiency expression of mismatch repair protein was detected by immunohistochemistry. The MSI status of carcinoma was predicted and then confirmed by PCR.

RESULTS: Male patients and left-side location predominated in the present series. Of 400 cases of sporadic colorectal carcinoma, 18 cases of MSI-H, 98 cases of MSI-L and 284 cases of MSS were detected by immunohistochemistry. Pathological features of MSI-H colorectal carcinoma included villous and papilloma structures, poor or good differentiation, mucinous type, signet-cell carcinoma or any mucinous differentiation, increased tumor-infiltrating lymphocytes (TIL cells), the presence of Crohn-like reaction, and the lack of necrosis. PCR analysis confirmed that there were 7 cases of MSI-H tumors, 1 case of MSI-L, 6 cases of MSS and 4 cases of allele of heterozygosity.

CONCLUSION: Sporadic MSI-H colorectal carcinoma has unique morphology, but shows no correlation with patient age, sex, and tumor size. Morphological assessment with immunohistochemistry can be used as a routine method for screening MSI-H and genetic colorectal carcinoma and guiding individualized treatment.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Sporadic colorectal carcinoma; Immunohistochemistry; DNA mismatch repair protein; PCR; Microsatellite instability

Li XX, Hu XJ, Wu T, Hu CM, Xu W, Li HB, Zhao T.

Histopathologic features and microsatellite instability of sporadic colorectal carcinoma: An analysis of 400 cases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(12): 1080-1089 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1080.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1080

摘要

目的: 探讨高度微卫星不稳定性(high level of microsatellite instability, MSI-H)结直肠癌临床病理学特征. 应用免疫组织化学方法检测肿瘤组织中DNA错配修复蛋白缺失表达, 判断肿瘤MSI状态, 建立筛选与遗传相关结直肠癌常规诊断流程.

方法: 分析临床特点, 光镜下观察肿瘤组织形态学特征, 免疫组织化学SP法分析肿瘤DNA错配修复蛋白表达缺失情况, 判断肿瘤MSI状态, 荧光定量PCR法进一步证实肿瘤MSI状态.

结果: 400例散发性结直肠癌, 以男性左半结肠多见, 免疫组织化学方法检测到MSI-H 18例, MSI-L 98例, MSS 284例, MSI-H肿瘤以老年女性左半结肠多见. MSI-H结直肠癌形态学多见绒毛乳头状结构, 高、低分化, 黏液腺癌、印戒细胞癌或伴有黏液分化, 肿瘤上皮内淋巴细胞浸润、肿瘤间质内见Crohn样淋巴细胞反应及瘤周淋巴浆细胞浸润明显, 多数缺乏坏死. 荧光定量PCR法进一步对18例MSI-H肿瘤进行分析, 证实MSI-H 7例, MSI-L 1例, MSS 6例, 同时发现4例肿瘤存在等位基因杂合性缺失.

结论: 散发性MSI-H结直肠癌与病理形态学具有明显相关性, 与患者年龄、性别、部位无显著相关. 结合形态学及免疫组织化学检测错配修复蛋白可作为判断MSI-H肿瘤的常规筛查方法, 对患者进行临床监控、个体化治疗及筛选与遗传相关结直肠癌具有重要临床意义, 但对MSI-H肿瘤最终确诊及是否与遗传相关仍需进行分子生物学方法检测进一步证实.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 散发性; 结直肠癌; 免疫组织化学; DNA错配修复蛋白; PCR法; 微卫星不稳定

核心提示: 本文初次报道应用免疫组织化学方法联合4种错配修复基因(mismatch repair gene, MMR)蛋白检测散发性结直肠癌的MMR-d, 为今后进一步阐述肿瘤的分子遗传学机制奠定基础.

李新霞, 胡晓杰, 吴涛, 胡昌明, 徐炜, 李洪波, 赵彤. 散发性结直肠癌组织病理学特征及微卫星不稳定状态分析400例. 世界华人消化杂志 2013; 21(12): 1080-1089 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1080.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1080

0 引言

DNA错配修复基因(mismatch repair gene, MMR)在DNA复制过程中修复错配的碱基使DNA精确复制, 保证人类遗传的保守性和稳定性. 当该基因功能丧失则导致细胞在增殖过程中出现的错误掺入和缺失不能修复, 表现出高度微卫星不稳定性(high level of microsatellite instability, MSI-H)[1,2]. MSI是错配修复基因的突变表型, 80%以上的遗传性非息肉病性结直肠癌(hereditary nonpolyposis colorectal cancer, HNPCC)肿瘤和10%-15%的散发性结直肠癌表现为MSI[1-3]. 大量文献报道MSI-H结直肠癌的临床病理学特征及生物学行为与MSS/MSI-L肿瘤存在显著差别[4-6]. 对具有家族史或具有MSI-H肿瘤临床病理特征的结直肠癌患者进行*MSI*和*MMR*基因突变检测, 可能筛选出HNPCC综合征, 有助于预测异时多发性结直肠癌的发生, 为指导患者选择个体化化疗方案及肿瘤预后判断, 具有重要临床意义[7-9]. 目前国内外关于结直肠癌MSI状态的研究主要集中在遗传相关结直肠癌, 散发性结直肠癌MSI的检测均为小样本且缺乏系统性报道[10-12]. 尤其国内尚缺乏以结直肠癌形态学研究为基础、从蛋白水平检测DNA MMR的大宗病例报道[11], MSI的检测多为复杂的分子检测[13], 难以实现肿瘤患者及高危人群的常规筛查. 本课题拟对随机选择的400例散发性结直肠癌的临床病理特征进行观察, 应用免疫组织化学方法检测肿瘤DNA MMR缺失情况, 筛选MSI-H结直肠癌, 再应用PCR技术对该组病例进行MSI分子检测, 以期建立MSI的常规方法, 为指导患者个体化治疗及早期发现与遗传相关结直肠癌肿瘤提供依据.

1 材料和方法

1.1 材料 随机选择广州金域医学检验中心病理科2006-2010年结直肠癌手术根治标本400例, HE切片由两名资深消化病理医师复片, 按照2007年新版WHO消化系肿瘤组织病理诊断标准进行形态学分型及分级. 临床病理学特征包括病变部位、肿瘤大小、肿瘤边缘、肿瘤出芽、

■研发前沿
微卫星不稳定检测和免疫组织化学检测是目前已被证明最有效的两种遗传性非息肉病性结直肠癌(hereditary nonpolyposis colorectal cancer, HNPCC)综合征初筛手段. 如何提高免疫组织化学方法检测MSI状态的敏感性和特异性是今后的研究重点.

■创新盘点

本文初次报道应用免疫组织化学方法联合4种MMR蛋白检测散发性结直肠癌的MMR-d, 评估肿瘤MSI状态, 同时意外发现4例MSS结直肠癌中存在等位基因杂合性缺失(allele of heterozygosity, LOH), 但我们没有发现肿瘤组织LOH与MSI共存的现象.

表 1 5对微卫星引物的位置和序列

引物名称	引物序列	扩增片段(bp)
BAT25F	6FAM-TCGCCTCCAAGAATGTAAGT	chr4: 55598151+55598274
BAT25R	TCTGCATTTTAACTATGGCTC	124
BAT26F	HEX-TGACTACTTTTGACTTCAGCC	chr2: 47641487+47641608
BAT26R	AACCATTCAACATTTTTAACCC	122
APCF(D5S346)	HEX-ACTCACTCTAGTGATAAATCG	chr5: 112213624-112213748
APCR(D5S346)	AGCAGATAAGACAGTATTACTAGTT	125
Mfd26CAF(D17S250)	6FAM-GGAAGAATCAAATAGACAAT	chr17: 37152092-37152243
Mfd26CAR(D17S250)	GCTGGCCATATATATATTTAAACC	152
AFM093xh3F(D2S123)	HEX-AAACAGGATGCCTGCCTTTA	chr2: 51288437+51288647
AFM093xh3R(D2S123)	GGACTTTCCACCTATGGGAC	211

间质类型以及肿瘤周围淋巴细胞反应和克隆样间质反应.

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学: 所有标本均经40 g/L甲醛溶液固定, 石蜡包埋, 4 μm切片, 免疫组织化学SP法染色. 所有抗体均购自Novocastra公司. 抗体稀释度为: hMLH1: 1∶600; hMSH2: 1∶600; MSH6 1∶800; PSM2抗体1∶1 000. 以距肿瘤组织5 cm以上的正常黏膜上皮和肿瘤内浸润的淋巴细胞为内对照. MSI结果判定: 4个DNA MMR中出现2个或2个以上蛋白失表达者为MSI-H; 出现1个蛋白失表达者为MSI-L; 4个MMR蛋白均表达者为MSS; 由于MSI-L和MSS的临床特征相似, 本组将此两类合并一组统计.

1.2.2 MSI的荧光定量PCR检测: (1)DNA提取: 根据HE染色结果, 对免疫组织化学检测的18例MSI-H病例分别挑选正常和肿瘤组织, 标记出最适合行显微切割的部位(肿瘤组织达80%以上)进行显微切割, 以酚/氯仿/异戊醇法分别提取肿瘤组织和其对应正常组织的DNA(采用QIAGEN QIAamp DNA FFPE Tissue Kit, Cat #56404); (2)微卫星不稳定性检测: 5对微卫星引物的位置和序列见表1(引物序列参考基因数据库(GDB: http://www.gdb.org); (3)微卫星扩增: BAT25、BAT26、APC(D5S346)和AFM093xh3(D2S123): 94 ℃ 2 min; 94 ℃ 20 s, 62 ℃ 20 s, 72 ℃ 30 s; 10个循环; 94 ℃ 20 s, 60 ℃ 20 s, 72 ℃ 30 s; 25个循环; 72 ℃ 5 min; 室温25 ℃保存. Mfd26CA(D17S250): 94 ℃ 2 min; 94 ℃ 20 s, 55 ℃ 20 s, 72 ℃ 30 s; 35个循环; 72 ℃ 5 min; 室温25 ℃保存; (4)毛细管电泳进行片段分析(ABI 3130XL): 取2个新PCR管, 标记为1、2管, 其中1管加入BAT25、AFM093xh3(D2S123)产物各2 μL, BAT26产物4 μL, 加入H2O 42 μL; 2管加入APC(D5S346)和Mfd26CA(D17S250)产物各2 μL, 加入H_2O 46 μL; 震荡混匀后微离. 取一新管, 以8.8 μL: 0.2 μL的比例加入Hi-Di formamide和500 Liz Size Standards, 混合均匀后, 短暂离心. 在96孔板中, 每孔加入9 μL的Hi-Di formamide和500 Liz Size Standards混合液. 于每孔中加入1 μL混匀后的扩增产物, 震荡混匀后, 短暂离心. 盖Plate Septa 96-Well盖, 置于热循环仪上, 95 ℃变性3 min, 4 ℃冷却5 min. 在ABI 3130xl上进行片段分析. 收集数据与结果; (5)电泳结束后实验数据采用片段分析软件Genemapperid V3.2进行数据整理和分析, 确定微卫星状态. MSI结果判定: (1)5个Mark中, 2个或2个以上Mark显示为微卫星序列不稳定时, 结果报告为MSI-H; (2)5个Mark中, 1个Mark显示为微卫星序列不稳定时, 结果报告为MSI-L; (3)5个Mark均显示稳定性, 结果报告为MSS.

统计学处理 采用χ^2检验分析组间差异, 应用Spearman等级相关检验分析相关性. 采用SPSS10.0软件进行统计分析.

2 结果

2.1 临床病理特征 本组选择的2006-2010年结直肠癌手术切除标本400例, 男242例, 女158例, 年龄分布为22-85岁(中位年龄61岁). 病变部位: 左半结肠包括: 直肠185例、乙状结肠90例、降结肠8例, 共计283例; 右半结肠包括: 升结肠18例、横结肠17例、盲肠5例, 结肠肝曲、脾曲肿瘤77例, 共计117例.

2.2 组织学分型及分级

2.2.1 组织学分型: 本组400例散发性结直肠癌中, 黏液腺癌53例(超过50%的肿瘤区域内见细

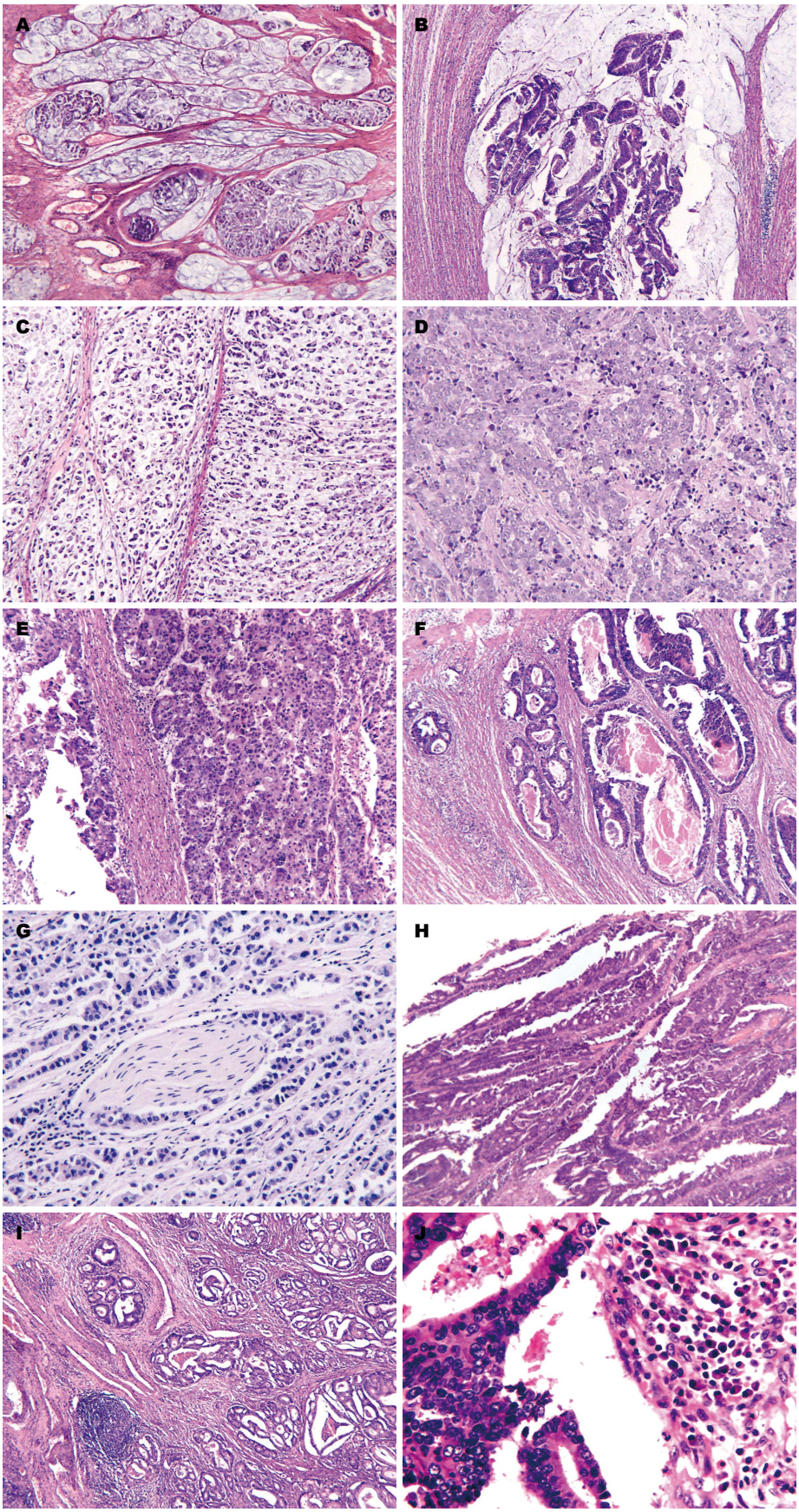


图1 不同MSI状态肿瘤组织学特征. A: 黏液腺癌(HE, ×200); B: 中分化腺癌伴有黏液成分(HE, ×200). C: 印戒细胞癌(HE, ×200); D: 髓样癌(HE, ×200); E: 肿瘤上皮内淋巴细胞浸润(HE, ×200); F: 腔内坏死(HE, ×200); G: 神经侵犯, 黏液腺癌(HE, ×200); H: 绒毛状结构(HE, ×200); I: 肿瘤间质内克隆样淋巴细胞反应(HE, ×200); J: 间质内较多的浆细胞浸润(HE, ×400).

■应用要点

建立经济、高效、实用、快速的免疫组织化学方法评估结直肠癌的MSI状态, 为患者早期预防、早期诊断及早期治疗起重要作用, 该方法可在基层病理科广泛开展, 有利于结直肠癌患者的大宗病例的筛查.

胞外黏液, 图1A); 伴有黏液分化21例(肿瘤内可见细胞外黏液的量<50%, 图1B); 印戒细胞癌8例(超过50%的肿瘤由印戒细胞组成, 图1C); 髓样癌15例(肿瘤细胞弥漫片状生长, 泡状核、显著核仁、胞浆丰富淡染以及明显上皮内淋巴细胞浸润, 图1D, E);混合性生长方式者57例(同一张

■同行评价
本文首次在国内应用免疫组织化学方法联合4种常见的MMR蛋白对400例散发性结直肠癌进行了DNA错配修复蛋白的检测, 具有一定的推广应用价值. 同时发现了4例MSS肿瘤存在LOH, 为今后进一步阐述肿瘤的分子发生机制奠定了基础.

表 2 18例MSI表达状态分型

序号	MSI状态				
	MLH1	MSH2	MSH6	PSM2	MSI
1	–	+	–	–	MSI–H
2	+	–	–	+	MSI–H
3	–	+	–	+	MSI–H
4	–	–	–	+	MSI–H
5	–	–	–	+	MSI–H
6	+	–	–	+	MSI–H
7	–	–	–	+	MSI–H
8	+	–	–	+	MSI–H
9	–	–	–	+	MSI–H
10	–	+	–	+	MSI–H
11	–	–	+	–	MSI–H
12	+	–	–	+	MSI–H
13	+	–	+	+	MSI–H
14	–	+	–	+	MSI–H
15	–	–	–	+	MSI–H
16	–	–	–	+	MSI–H
17	+	–	–	+	MSI–H
18	–	–	–	+	MSI–H

MSI: 微卫星不稳定性; MSI–H: 高度微卫星不稳定性.

切片内至少存在2种不同的组织学亚型和生长方式). 非特殊类型腺癌: 246例.

2.2.2 组织学分级: 高分化腺癌23例(腺体成分>95%); 中分化腺癌281例(腺体成分占50%-95%); 低分化腺癌(腺体成分占5%-50%, 包括黏液腺癌和印戒细胞癌, 图1H)73例; 未分化腺癌23例(腺体成分<5%).

2.3 免疫组织化学结果

2.3.1 MLH1、MSH2、MSH6和PMS2蛋白表达特征: 免疫组织化学染色证实: MSS肿瘤284例, MSI-L肿瘤98例, MSI-H肿瘤18例. 其中MLH1-/MSH2- 8例; MLH1-/MSH6- 11例; MLH1-/PMS2- 2例. MSH2-/MSH6- 12例; MSH2-/PMS2- 1例; MSH6-/PMS2- 1例; MLH1-/MSH2-/MSH6- 7例(表2). 400例肿瘤组织对应的手术切端正常大肠黏膜的4种抗体均呈阳性表达.

2.3.2 MLH1、MSH2、MSH6和PMS2蛋白表达与散发性结直肠癌临床病理学特征关系: MSS及MSI-L肿瘤组织学多为中分化腺癌, 周围常伴腺瘤结构, 可见腔内坏死(图1F)以及浸润性穿透性生长模式, 常见脉管及神经侵犯(图1G), 间质以瘢痕疙瘩样的胶原纤维束C型间质多见. MSI-H肿瘤有18例, 男6例, 女12例. 发病年龄从27-80岁, 其中20-30岁2例; 50-60岁3例; 60-70岁5例; 70-80岁8例. 发病部位右半结肠5例; 左半结肠13例. 9例生长方式为膨胀性生长, 9例为浸润性生长. 间质反应A型层状纤细的胶原纤维基质、B型厚透明变性的瘢痕样胶原纤维间质及C型黏液基质相关瘢痕疙瘩样的胶原纤维束间质在MSI-H肿瘤组织中均可见. 3例腺癌组织中见绒毛状结构(图1H), 7例肿瘤浸润性前沿间质内或肿瘤上皮内可见克隆样淋巴细胞反应(图1I), 11例伴有黏液成分, 12例可见瘤周淋巴细胞增多及间质内浆细胞增多改变(图1G), 9例可见肿瘤上皮内淋巴细胞浸润(tumor infiltrating lymphocyte, TIL)>2个/HPF.

2.4 荧光定量PCR检测MSI状态 18例免疫组织化学方法检测的MSI-H病例中, PCR技术检测到MSI-H7例(7/18, 38.9%)(图2), MSI-L 1例(1/18, 5.6%), MSS 6例(6/18, 33.3%), 该方法还检测到等位基因杂合性缺失(allele of heterozygosity, LOH)病例4例(4/18, 22.2%)(图3), 4例均累及D2S123位点. 1例LOH位于D5S346位点; 3例LOH位于D17S250位点. LOH的判定标准: 肿瘤组织中微卫星DNA两个等位基因的相对强度与正常组织的等位基因相对强度的比值作为判定依据, 即RF = (P2/P1-T)/(P2/P1-N), RF<0.667或>1.50时, 我们判断该位点发生了LOH.

3 讨论

本研究对2006-2010年随机选择的400例散发性结直肠癌肿瘤组织首先进行临床特征及形态学观察, 男性占入选病例的60.5%(242/400), 女性39.5%(158/400), 患者中位年龄61岁. 组织形态学观察: 非特殊类型腺癌以中分化腺癌多见, 占总病例数的61.5%(246/400). 其余分别为黏液腺癌53例(13.25%, 53/400), 两种或以上混合性生长方式者57例(14.25%, 57/400), 伴有黏液分化的腺癌21例(5.25%, 21/400), 髓样癌15例(28.75%, 15/400), 印戒细胞癌8例(2%, 8/400); 免疫组织化学检测MMR蛋白表达, 有18例为MSI-H肿瘤, 阳性率仅4.5%(18/400), 低于文献报道[14-16], 分析原因可能与入选病例以左半结肠老年男性多见, 组织学以中分化腺癌为主有一定相关性. 本组MSI-H结直肠癌患者中位年龄为67.5岁, 略低于文献报道的74岁, 但高于修订Bethesda指南推荐的<50岁的诊断年龄, 说明需要扩大年龄范围在低龄因素之外去寻找MSI-H表型; 在18例MSI-H肿瘤中, 男6例, 女12例, 女

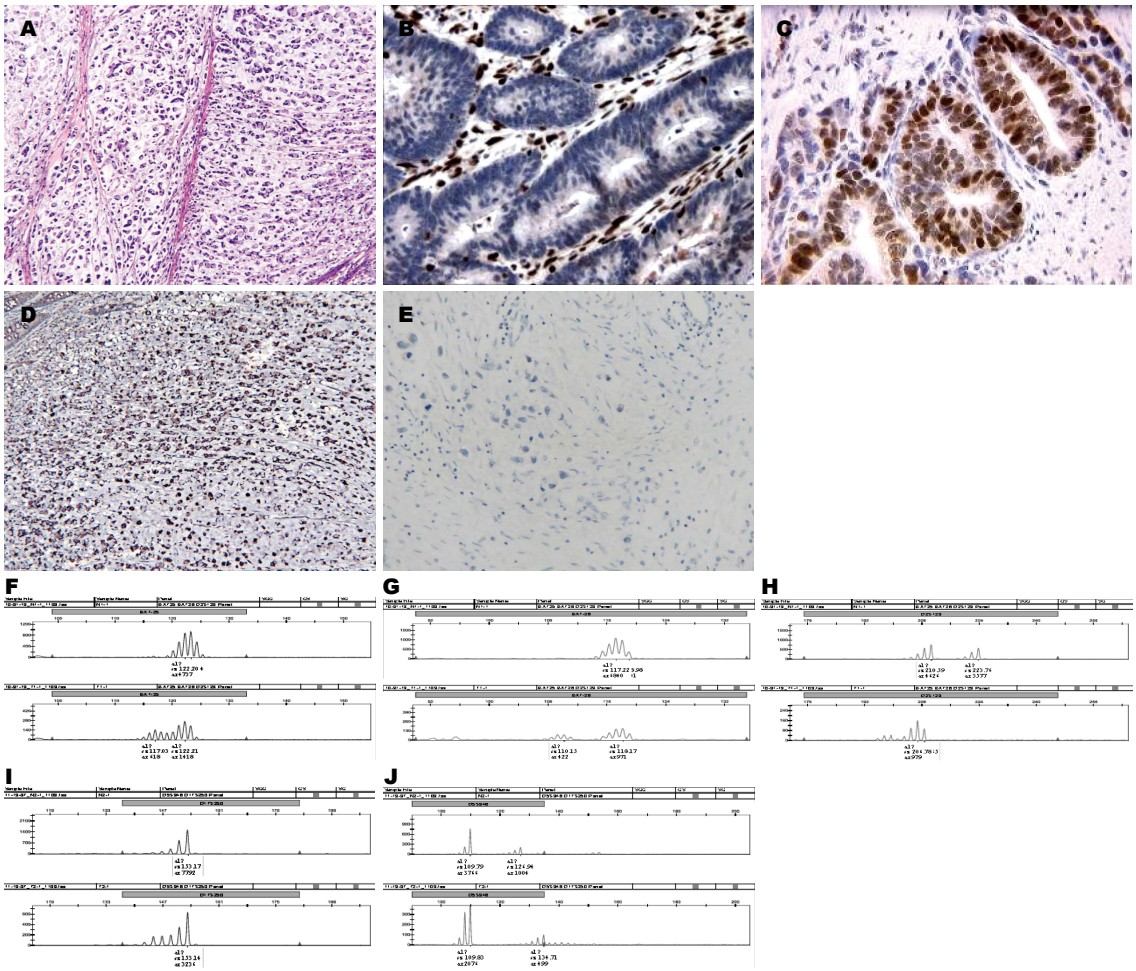


图 2 印戒细胞癌. A: 印戒细胞癌(HE, ×100); PSM2+/MLH1−/MSH2−阴性表达(HE, ×200); B: 间质内淋巴细胞核阳性(HE, ×200); C: 瘤周正常腺上皮核阳性(HE, ×200); D: PSM2蛋白表达(SP, ×200); E: MSH2蛋白表达丢失(SP, ×200); F: BAT25位点电泳图条带发生移位; G: BAT26位点电泳图条带发生移位; H示S123位点电泳图条带发生移位; I: S250位点电泳图未见异常; J: S346位点电泳图条带发生移位.

性比例66.7%, 与以前报道的比例接近. 18例MSI-H表型肿瘤中右半结肠5例; 左半结肠13例. 在病理形态学上多表现为低分化且多伴有黏液分化, 黏液腺癌和印戒细胞癌分别有5例, 3例, 多见肿瘤上皮内淋巴细胞TIL、克隆样淋巴细胞间质反应及缺乏结直肠癌腺腔内脏的坏死, 淋巴结转移相对少见、且常出现组织学异质性的混合性形态学特征(7例), 与非特异性中分化腺癌常见腺腔内脏的坏死, 胶原化的癌性间质以及肿瘤周围常见管状腺瘤改变明显不同, 散发性MSI-H结直肠癌肿瘤患者与发病部位、患者年龄及性别无显著相关, 而与病理组织学分型及分级具有明显相关性. 病理医生可通过其独特的形态学特征来鉴别微卫星状态、尽早认识HNPCC综合征. 校正的Bethesda指导方针也明确指出病理形态学观察的重要性, 对于50-60岁的结直肠癌患者, 如病理医师明确肿瘤MSI-H形态学特征, 则应推荐患者做进一步的检测, 存在风险的患者即可在肿瘤切除术后的常规病理检查中得到MMR蛋白表达情况的判断, 为今后在临床常规工作中对具有上述组织学特征的结直肠癌患者进行进一步MSI准确的分子检测及筛选与遗传相关结直肠癌起提示作用[17].

免疫组织化学法能检测针吸和肠镜活检的微小肿瘤碎块组织, 便于早期筛选HNPCC患者. 该方法具有技术简单、费用较低、报告时间短的优点, 利于在基层医院病理科广泛开展[18,19]. 我们应用免疫组织化学方法对400例病例进行MSI检测, 116例(29%)表现出MSI, 其中MSI-H 18例(4.5%), MSI-L 98例(24.5%), MSS为71%. 本组MSI-H肿瘤以MLH1、MSH2、MSH6蛋白丢失多见, 但与Kaur等[17]报道不同MMR蛋白丢失可能具有相应的组织学亚型相比, 并无统计学意义, 与Shia等[16]研究结果比较, 本组MSI-H肿瘤发生频率较低. IHC方法能

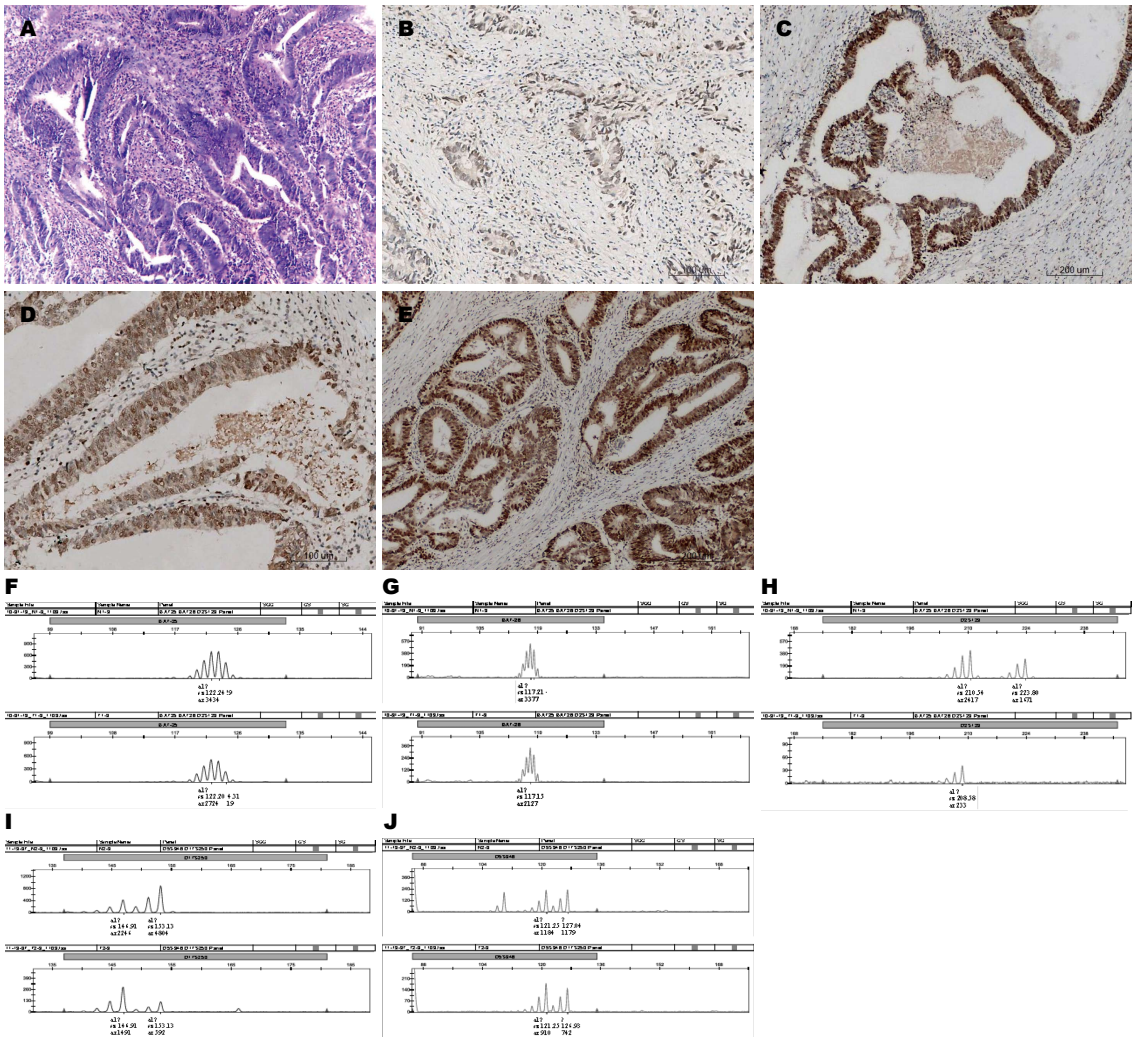


图 3 中分化腺癌. A: 中分化腺癌(HE, ×100); B: MLH1蛋白表达(SP, ×200); C: MSH2表达(SP, ×200); D: MSH2蛋白表达(SP, ×200); E: PMS2蛋白表达(SP, ×200); F: BAT25位点电泳图无变化; G: BAT26位点电泳图无变化; H: S123位点; I: S250位点; J: S346位点发生了等位基因杂合性缺失.

直接显示缺失表达的特殊*MMR*基因, 可针对目标基因做有效的突变分析, 同时IHC鉴别突变基因的能力也可对一些标准方法检测失败的患者进行补充. 同时本组实验联合使用4种MMR蛋白, 可提高预测肿瘤MSI状态的敏感性和特异性. 但是我们必须认识到: 虽然目前常见的4种MMR抗体能检测到大多数MMR蛋白缺失病例, 但仍可能存在潜在致病的假定基因, 因此可能会漏掉一些新的MMR蛋白丢失表达的情况, 而MSI的分子检测能检测任何异常致病的*MMR*基因, 在条件允许的情况下, 临床实践工作中在有MSI-H形态学基础上, 应尽量选择两种方法同时使用.

因此为进一步验证肿瘤MSI状态, 本组对免疫组织化学方法检测的18例MSI-H肿瘤进行了MSI分子检测, MSI-H肿瘤7例; MSI-L肿瘤1例; MSS肿瘤6例; LOH肿瘤4例. 其中D2S123变异7例(38.9%)、D17S250变异7例(38.9%)、D5S346变异5例(27.8%), BAT-25变异4例(22.2%)、BAT-26变异4例(22.2%)、5个标志之间无显著性差异(P>0.0005). 文献报道HNPCC中单碱基重复序列BAT-26, BAT-25不稳定发生率较高, BAT-26在HNPCC肿瘤中阳性率高达100%, 单纯检测BAT-26即可判断家系成员的MSI状态, 散发性MSI结直肠癌中双碱基重复序列不稳定发生率较高[20], 本组资料显示BAT-26阳性率为22.2%, 明显低于在HNPCC肿瘤中的检出率. 为什么在HNPCC中单碱基重复序列不稳定发生率高, 而在散发性MSI结直肠癌中双碱基重复序列不稳定发生率高, 目前尚无定论. 有趣的是: 对本组免疫组织化学检测的18例MSI-H肿瘤组织进行MSI分子检测, 意外发现4例MSS结直肠癌中存在LOH, 其中4例均检出*D2S123*基因的LOH, 3例检出*D17S250*基因的LOH, 1例检出*D5S346*基因

的LOH. 但是我们没有发现肿瘤组织LOH与MSI共存的现象, 与文献报道一致[21]. 是否提示*MMR*基因通过等位基因杂合性缺失是散发性结直肠癌发生的重要分子遗传途径之一? 有待大样本进一步研究.

微卫星不稳定检测和免疫组织化学检测是目前已被证明最有效的两种HNPCC综合征初筛手段. 既往研究发现, 免疫组织化学检测与MSI检测有很好的一致性, Shia统计了1999-2006年的16篇文献, 发现使用免疫组织化学预测hMLH 1和hMSH2胚系突变的总敏感性为85%, 略低于MSI检测的93%, 但在具体的数值上还是具有较好的符合度[16]. 最近一项研究对这两种方法进行了Meta分析: 发现免疫组织化学法的综合敏感性为82.6%, 诊断优势比为22.537; MSI法的综合敏感性为85.2%, 诊断优势比为33.115; 两种筛查方法效果均较好, 诊断效果无明显差异, 均对HNPCC筛查具有理想的诊断价值[18]. 我们的研究也显示免疫组织化学作为初筛手段优于MSI检测之处在于其只需常规病理实验室就可进行, 并可应用于大规模的人群筛查; 而MSI检测常需要使用分子生物学实验室, 影响其临床应用. 由于散发性大肠癌发生hMLH1蛋白缺失的病例大部分是由*hMLH1*基因启动子甲基化引起[22-24], 而且这样的患者也常发生*BRAF*基因突变, 因此对免疫组织化学检测到hMLH1蛋白缺失的病例进行*hMLH1*基因启动子甲基化和*BRAF*基因突变的检测可以帮助剔除那些非HNPCC病例; 对于未检测到突变的患者, 还可行*hMSH6*和*hPMS2*基因的检测及检测大片段缺失的情况, 我们也将在以后的筛查策略中加入这些检测帮助筛选HNPCC.

本研究对MSI-H肿瘤系统分析了临床病理学特征, 发现分化差、黏液分化、绒毛乳头状结构、肿瘤间质Crohn反应和肿瘤上皮内淋巴细胞浸润是MSI-H相对独特的形态学特征. 多数研究证明, 无家族史MSI-H大肠癌主要通过DNA甲基化和*BRAF*基因突变的锯齿状腺瘤-癌路径[23,24], 而家族性MSI-H大肠癌是通过*MMR*基因种系突变及*APC*、*β-catenin*和*K-ras*频繁突变的传统腺瘤-癌路径. 两者相比, 无家族史MSI-H大肠癌更多地具有女性多见、诊断年龄偏大、低分化、黏液分化、组织学异质性及癌周锯齿状腺瘤多见等特点; 本组检测的18例MSI-H肿瘤形态上符合上述特点. 家族性MSI-H大肠癌更多地具有类Crohn反应、TILs及癌组织周围传统腺瘤多见等特点. 值得注意的是, 家族性MSI-H大肠癌更像普通型大肠癌, 而无家族史MSI-H大肠癌则具有特殊的形态学特征. 虽然对患者进行*MLH1*启动子甲基化和*BRAF*基因突变检测有助于辨别两者, 但本组研究和前期研究均认为对于有遗传倾向肿瘤患者第一步应选择简便、易行、互补、快速的方法, 对有遗传倾向的家系不能仅以阿姆斯特丹标准进行选择, 而应作相对广泛的初筛, 以减少漏诊; 对联合形态学及免疫组织化学方法筛选的MSI-H肿瘤再进行突变基因检测, 即首先检测肿瘤组织中MMR蛋白包括hMSH2、PMS2、hMLH1、MSH6蛋白是否缺失, 对MSI-H或者蛋白表达丢失者再进行hMSH2或hMLH1种系突变检测, 这样不仅可以提高突变检出率, 提高效率, 减少种系突变基因检测的数目, 而且可以减轻患者的经济负担.

结直肠癌MSI检测不仅是筛选HNPCC肿瘤的重要指标, 而且可以使10%-15%的MSI-H表型肿瘤的治疗和预后策略发生改变, 即5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-Fu)是结直肠癌的基础一线化疗药物, MMR-缺陷肿瘤对5-Fu不敏感, 患者无法从5-Fu的化疗药中获益或提高生存率[25-30]. 因此, 判断结直肠癌MSI状态对提高结直肠癌的预防、诊断和治疗水平, 对降低结直肠癌的发病率和死亡率有着重要意义.

4 参考文献

1 Iacopetta B, Grieu F, Amanuel B. Microsatellite instability in colorectal cancer. *Asia Pac J Clin Oncol* 2010; 6: 260-269 [DOI: 10.1111/j.1743-7563.2010.01335.x]

2 Jacob S, Praz F. DNA mismatch repair defects: role in colorectal carcinogenesis. *Biochimie* 2002; 84: 27-47 [PMID: 11900875 DOI: 10.1016/S0300-9084(01)01362-1]

3 Douillard JY. Microsatellite instability and mismatch repair genes in colorectal cancer: useful tools for managing patients and counseling their relatives. *Clin Colorectal Cancer* 2010; 9: 193-194 [PMID: 20920989 DOI: 10.3816/CCC.2010.n.028]

4 Merok MA, Ahlquist T, Røyrvik EC, Tufteland KF, Hektoen M, Sjo OH, Mala T, Svindland A, Lothe RA, Nesbakken A. Microsatellite instability has a positive prognostic impact on stage II colorectal cancer after complete resection: results from a large, consecutive Norwegian series. *Ann Oncol* 2012 Dec 12. *[Epub ahead of print]* [PMID: 23235802]

5 Jung SB, Lee HI, Oh HK, Shin IH, Jeon CH. Clinicopathologic Parameters for Prediction of Microsatellite Instability in Colorectal Cancer. *Cancer Res Treat* 2012; 44: 179-186 [PMID: 23091444 DOI: 10.4143/crt.2012.44.3.179]

6 Hyde A, Fontaine D, Stuckless S, Green R, Pollett A, Simms M, Sipahimalani P, Parfrey P, Young-

husband B. A histology-based model for predicting microsatellite instability in colorectal cancers. *Am J Surg Pathol* 2010; 34: 1820-1829 [PMID: 21107088 DOI: 10.1097/PAS.0b013e3181f6a912]
7 de la Chapelle A, Hampel H. Clinical relevance of microsatellite instability in colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28: 3380-3387 [PMID: 20516444 DOI: 10.1200/JCO.2009.27.0652]
8 Des Guetz G, Schischmanoff O, Nicolas P, Perret GY, Morere JF, Uzzan B. Does microsatellite instability predict the efficacy of adjuvant chemotherapy in colorectal cancer? A systematic review with meta-analysis. *Eur J Cancer* 2009; 45: 1890-1896 [PMID: 19427194 DOI: 10.1016/j.ejca.2009.04.018]
9 Greenson JK, Huang SC, Herron C, Moreno V, Bonner JD, Tomsho LP, Ben-Izhak O, Cohen HI, Trougouboff P, Bejhar J, Sova Y, Pinchev M, Rennert G, Gruber SB. Pathologic predictors of microsatellite instability in colorectal cancer. *Am J Surg Pathol* 2009; 33: 126-133 [PMID: 18830122 DOI: 10.1097/PAS.0b013e31817ec2b1]
10 郑树, 张苏展, 蔡善荣, 黄彦钦. 大肠癌筛查方案及其实践. 中国肿瘤 2009; 18: 701-703
11 孟文建, 王玲, 于永扬, 李立, 周斌, 周总光. 微卫星不稳定在散发性II、III期直肠癌中的意义. 重庆医学 2010; 39: 2420-2422
12 孟晓明, 盛剑秋, 武子涛, 付蕾, 安贺娟, 韩英, 李世荣. 根据临床病理学特征鉴别无家族史MSI-H大肠癌. 基础医学与临床 2010; 30: 252-256
13 孟晓明, 金鹏, 盛剑秋, 陆晓娟, 付蕾, 范如英, 李恕军, 李世荣. 散发性大肠癌患者中错配修复基因胚系突变筛查策略. 胃肠病学和肝病学杂志 2010; 19: 604-607
14 Greenson JK, Bonner JD, Ben-Yzhak O, Cohen HI, Miselevich I, Resnick MB, Trougouboff P, Tomsho LD, Kim E, Low M, Almog R, Rennert G, Gruber SB. Phenotype of microsatellite unstable colorectal carcinomas: Well-differentiated and focally mucinous tumors and the absence of dirty necrosis correlate with microsatellite instability. *Am J Surg Pathol* 2003; 27: 563-570 [PMID: 12717242 DOI: 10.1097/00000478-200305000-00001]
15 Hornick JL, Farraye FA, Odze RD. Clinicopathologic and immunohistochemical study of small apparently "de novo" colorectal adenocarcinomas. *Am J Surg Pathol* 2007; 31: 207-215 [PMID: 17255765 DOI: 10.1097/01.pas.0000213383.17418.a9]
16 Shia J, Tang LH, Vakiani E, Guillem JG, Stadler ZK, Soslow RA, Katabi N, Weiser MR, Paty PB, Temple LK, Nash GM, Wong WD, Offit K, Klimstra DS. Immunohistochemistry as first-line screening for detecting colorectal cancer patients at risk for hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome: a 2-antibody panel may be as predictive as a 4-antibody panel. *Am J Surg Pathol* 2009; 33: 1639-1645 [PMID: 19701074 DOI: 10.1097/PAS.0b013e3181b15aa2]
17 Kaur G, Masoud A, Raihan N, Radzi M, Khamizar W, Kam LS. Mismatch repair genes expression defects & amp; association with clinicopathological characteristics in colorectal carcinoma. *Indian J Med Res* 2011; 134: 186-192 [PMID: 21911971]
18 彭勇, 陈明清, 董坚. 免疫组织化学法筛选遗传性非息肉病性大肠癌的研究进展. 实用癌症杂志 2009; 24: 672-674
19 Alkhalidi H, Kfoury H. Status of mismatch repair genes hMSH2 and hMSH6 in colorectal cancer in Saudi patients: an immunohistochemical analysis. *East Mediterr Health J* 2012; 18: 1114-1117 [PMID: 23301373]
20 Kria Ben Mahmoud L, Arfaoui A, Khiari M, Chaar I, Lounis A, Sammoud S, Ben Hmida AM, Gharbi L, Mzabi SR, Bouraoui S. Evaluation of microsatellite instability, MLH1 expression and hMLH1 promoter hypermethylation in colorectal carcinomas among Tunisians patients. *Tunis Med* 2012; 90: 646-653 [PMID: 22987381]
21 Dietmaier W, Riedlinger W, Kohler A, Wegele1 P, Beyser K, Sagner G, Wartbichler R, Ruschoff J. Detection of Microsatellite Instability (MSI) and Loss of Heterozygosity (LOH) in Colorectal Tumors by Fluorescence-based Multiplex Microsatellite PCR. *Biochemica* 1999; 2: 43-46
22 Suehiro Y, Hinoda Y. [Genetic and epigenetic changes in colorectal cancer and genetic testing for personalized medicine]. *Rinsho Byori* 2012; 60: 976-981 [PMID: 23323463]
23 van Roon EH, Boot A, Dihal AA, Ernst RF, van Wezel T, Morreau H, Boer JM. BRAF mutation-specific promoter methylation of FOX genes in colorectal cancer. *Clin Epigenetics* 2013; 5: 2 [PMID: 23324568 DOI: 10.1186/1868-7083-5-2]
24 Vlaykova T, Mitkova A, Stancheva G, Kadiyska T, Gulubova M, Yovchev Y, Cirovski G, Chilingirov P, Damyanov D, Kremensky I, Mitev V, Kaneva R. Microsatellite instability and promoter hypermethylation of MLH1 and MSH2 in patients with sporadic colorectal cancer. *J BUON* 2011; 16: 265-273 [PMID: 21766496]
25 Jover R, Zapater P, Castells A, Llor X, Andreu M, Cubiella J, Balaguer F, Sempere L, Xicola RM, Bujanda L, Reñé JM, Clofent J, Bessa X, Morillas JD, Nicolás-Pérez D, Pons E, Payá A, Alenda C. The efficacy of adjuvant chemotherapy with 5-fluorouracil in colorectal cancer depends on the mismatch repair status. *Eur J Cancer* 2009; 45: 365-373 [PMID: 18722765 DOI: 10.1016/j.ejca.2008.07.016]
26 Min BH, Bae JM, Lee EJ, Yu HS, Kim YH, Chang DK, Kim HC, Park CK, Lee SH, Kim KM, Kang GH. The CpG island methylator phenotype may confer a survival benefit in patients with stage II or III colorectal carcinomas receiving fluoropyrimidine-based adjuvant chemotherapy. *BMC Cancer* 2011; 11: 344 [PMID: 21827707 DOI: 10.1186/1471-2407-11-344]
27 Van Cutsem E, Tabernero J, Lakomy R, Prenen H, Prausová J, Macarulla T, Ruff P, van Hazel GA, Moiseyenko V, Ferry D, McKendrick J, Polikoff J, Tellier A, Castan R, Allegra C. Addition of aflibercept to fluorouracil, leucovorin, and irinotecan improves survival in a phase III randomized trial in patients with metastatic colorectal cancer previously treated with an oxaliplatin-based regimen. *J Clin Oncol* 2012; 30: 3499-3506 [PMID: 22949147 DOI: 10.1200/JCO.2012.42.8201]
28 Nukatsuka M, Saito H, Sakamoto K, Nakagawa F, Uchida J, Kobunai T, Shiraishi K, Takechi T. Efficacy of combination chemotherapy using oral fluoropyrimidine S-1 with oxaliplatin (SOX) against colorectal cancer in vivo. *Anticancer Res* 2012; 32: 2807-2812 [PMID: 22753741]
29 Bao F, Panarelli NC, Rennert H, Sherr DL, Yantiss RK. Neoadjuvant therapy induces loss of MSH6 expression in colorectal carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2010; 34: 1798-1804 [PMID: 21107085 DOI: 10.1097/

PAS.0b013e3181f906cc]
30 Hosokawa A, Ogawa K, Ando T, Suzuki N, Ueda A, Kajiura S, Kobayashi Y, Tsukioka Y, Horikawa N, Yabushita K, Fukuoka J, Sugiyama T. Preventive effect of traditional Japanese medicine on neurotoxicity of FOLFOX for metastatic colorectal cancer: a multicenter retrospective study. *Anticancer Res* 2012; 32: 2545-2550 [PMID: 22753712]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》修回稿须知

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

1 修回稿信件

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

2 稿件修改

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

3 版权

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

世界华人消化杂志 2013年4月28日; 21(12): 1090-1095
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

胃增生性息肉的研究进展

宋美玥, 李 娟, 焦宇飞

■背景资料
胃增生性息肉(gastric hyperplastic polyps, GHP)是胃息肉中最常见的息肉样病变之一, 目前已证实其具有癌变潜能. GHP发病机制不明, 至今仍未发现能特征性提示GHP将发生恶性转变的标志物.

宋美玥, 李娟, 焦宇飞, 哈尔滨医科大学附属第二临床医院病理科 黑龙江省哈尔滨市 150086
宋美玥, 硕士, 主要从事病理学研究.
作者贡献分布: 本文综述由宋美玥与李娟共同完成; 焦宇飞审校.
通讯作者: 焦宇飞, 教授, 主任医师, 150086, 黑龙江省哈尔滨市南岗区学府路246号, 哈尔滨医科大学附属第二临床医院病理科. yufeijiao@yahoo.com
电话: 0451-86605803
收稿日期: 2013-01-29 修回日期: 2013-03-04
接受日期: 2013-04-12 在线出版日期: 2013-04-28

An overview of current research of gastric hyperplastic polyps

Mei-Yue Song, Juan Li, Yu-Fei Jiao

Mei-Yue Song, Juan Li, Yu-Fei Jiao, Department of Pathology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China
Correspondence to: Yu-Fei Jiao, Professor, Chief Physician, Department of Pathology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, 246 Xuefu Road, Nangang Region, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. yufeijiao@yahoo.com
Received: 2013-01-29 Revised: 2013-03-04
Accepted: 2013-04-12 Published online: 2013-04-28

Abstract
Gastric hyperplastic polyp (GHP) is one of the most common polypoid lesions of the stomach and has the potential of malignant transformation. This article gives a review of recent progress in research of GHP in terms of clinical and pathological factors, pathogenesis, relation with atypical hyperplasia and canceration, molecular biology and mucin expression.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Gastric hyperplastic polyps; Pathogenesis; Molecular biology; Mucin phenotype

Song MY, Li J, Jiao YF. An overview of current research of gastric hyperplastic polyps. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(12): 1090-1095 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1090.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1090

摘要
胃增生性息肉(gastric hyperplastic polyps, GHP)是胃息肉中最常见的息肉样病变之一, 目前已证实其具有癌变潜能. 本文主要从GHP的临床病理学因素、发病机制、GHP与不典型增生和癌变的关系、GHP的分子生物学研究和粘蛋白的表达等方面, 对GHP研究进展作一综述.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 胃增生性息肉; 发病机制; 分子生物学; 粘蛋白表型

核心提示: 胃增生性息肉(gastric hyperplastic polyps, GHP)通常被认为是一种良性病变, 但是目前越来越多的报道证实其具有癌变潜能. 有些研究结果证实GHP的癌变过程为: GHP→不典型增生→局灶癌变. 近年来, 对GHP中的粘蛋白表达的研究发现粘蛋白可能是在恶性肿瘤的早期阶段的检测、治疗及提示肿瘤预后的良好标志物. 研究GHP粘蛋白的表达情况可能是将来研究的重点内容. 本文从发病机制、分子生物学、粘蛋白的表达等方面对GHP研究进展进行概述.

宋美玥, 李娟, 焦宇飞. 胃增生性息肉的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(12): 1090-1095 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1090.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1090

0 引言
胃增生性息肉(gastric hyperplastic polyps, GHP)是胃息肉的主要类型[1-3], 约占所有胃上皮息肉的70%-90%[2-6], 在胃窦部多见[7]. GHP通常被认为是一种良性病变, 但是越来越多的实验已证实其具有癌变潜能[8-12].

1 GHP的临床病理学因素
GHP患者年龄一般为20-88岁. 虽然大多数研究指出, 女性发病率略高, 但也有报道显示男性略多发. 患者可无症状, 通常在胃肠道内镜检查时发现息肉[13-16]. GHP可发生于胃组织的任何部位(贲门、胃体、胃底、胃窦等), 但较常见于胃窦部[7]. GHP大小从几毫米到几厘米不等, 大多数GHP的最大径是1 cm, 最大的GHP可达12 cm[17].

■同行评议者
杜雅菊, 教授, 哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科

GHP患者中, 20%为多发性GHP, 通常这部分患者同时患有自身免疫性胃炎[13].

2 病理学表现

大部分GHP是小的广基性息肉, 大的GHP通常可有蒂或有亚蒂. GHP的形态学特点是胃小凹上皮细胞增生, 腺体扭曲伸长, 平滑肌细胞增生以及间质水肿并伴有炎细胞浸润[18].

3 鉴别诊断

GHP与胃Peutz-Jeghers息肉在组织学上非常相似. 胃Peutz-Jeghers息肉组织病理学特点是平滑肌广泛增生形成树枝状形态, GHP的平滑肌虽然也增生, 但是并不形成如此广泛的增生. 而且, 胃Peutz-Jeghers息肉的间质中通常无炎症细胞浸润. 此外, 胃Peutz-Jeghers息肉非常罕见[19]. 胃Peutz-Jeghers息肉患者特征性的临床表现为在面部、口唇周围、颊黏膜、指和趾以及手掌和足底部皮肤等处发生色素斑. 严重者可同时出现腹痛、腹泻、黏液便、便血、便秘、呕血等消化系症状[20].

4 发病机制

GHP发病机制目前尚不清楚[21-25], 研究表明, GHP是一种修复再生性的病变. 据报道24.2%的患者随着胃黏膜损伤的愈合, 增生的小凹上皮组织会逐渐消失, 其余将发展为GHP[21].

4.1 幽门螺杆菌与GHP发生的关系 GHP的发生与各种慢性胃炎具有很大的相关性, 特别是由幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染引起的胃炎和自身免疫性胃炎[13,22]. 一些研究表明, GHP与*H. pylori*的感染密切相关[23]. Ohkusa等研究表明根除*H. pylori*能够使一定数量的GHP消失或减退[16,22-24]. 在Saccá等[16]的研究中, 虽然70%的患者*H. pylori*根除后GHP消失或减退, 但仍有部分患者*H. pylori*被根除后, GHP依然存在[16]. 还有一部分*H. pylori*检测阳性的患者未查见GHP的发生, 而*H. pylori*血清学试验阴性的人群也患有GHP. 因此, 有研究表示*H. pylori*与GHP的发生无明显相关性[3,11,12,25,26]. 这些研究说明还有其他因素导致GHP的持续存在, 其原因还有待于进一步研究.

4.2 自身免疫性胃炎与GHP发生的关系 Dirschmid等[27]的研究表明, 自身免疫性胃炎与GHP的发生密切相关. 而且长期以来自身免疫性胃炎被认为是一种癌前病变[20,27].

4.3 长期应用质子泵抑制剂与GHP发生的关系 Pashankar等[28]研究表明长期应用质子泵抑制剂(特别是儿童), 容易引发胃息肉. 目前大量研究表明长期应用质子泵抑制剂可以诱发胃底腺息肉. 在Carmack等[25]对美国120 000例患者的食管、胃、十二指肠镜检中, 胃息肉的患病率占6.35%, 胃底腺息肉的患病率最高, 占患者数的77%, 但未见肠上皮化生(intestinal metaplasia, IM). GHP的患病率为17%, 其中发生IM占13%. 他们推断胃底腺息肉的患病率明显增高, GHP的患病率显著降低是广泛使用质子泵抑制剂的结果[25]. *H. pylori*感染率和萎缩性胃炎的患病率持续降低可能是GHP相对降低的原因[25]. 许多研究表明东亚地区的研究数据可能不能应用于北美的疾病分类学研究中. 有文献同样报道胃息肉的多发类型因地理位置不同而发生改变. 东欧和亚洲GHP的发生率高于西方国家[29]. Carmack等[25]研究中也表明, 在西方国家, 胃底腺息肉的患病率逐渐上升, 主要原因是由于长期应用质子泵抑制剂治疗由*H. pylori*感染而引发的胃炎. GHP发生与长期应用质子泵抑制剂的关系尚不清楚. 如果GHP确实与*H. pylori*关系密切, 质子泵抑制剂是根除*H. pylori*的主要治疗方法, 长期应用质子泵抑制剂便可降低GHP的发生率. 但在GHP发生机制还不明确的今天, 此结论还需要进一步论证.

4.4 器官移植与GHP发生的关系 Jewell等[26]对器官移植受体发生GHP的研究表明, GHP的发生与器官移植有明显的关联性. 由于器官移植受体患者需要在术后应用免疫抑制药物, 自身免疫抑制容易并发感染, 慢性胃炎的发生率高于正常人群, 这可能是GHP容易发生在器官移植受体患者的主要原因. 器官移植受体患者的GHP和非器官移植患者的GHP相比较, 其组织病理学特征无明显差异, 也在一定程度上表明两者的病理学发生极有可能是相同的. 但是器官移植受体患者容易发生GHP的明确发病机制还有待于进一步的研究.

5 GHP不典型增生或癌变

GHP最初通常被认为是一种良性病变, 但是目前越来越多的研究报道GHP伴有不典型增生的发生率是1%-20%[13,19,30-34], GHP伴有局灶癌变的发生率是0.3%-7.1%[1,19,32,35,36]. GHP发生局部癌变的癌组织通常是高分化癌, 但也有一些报道证实GHP发生局部癌变的癌组织为印戒细胞癌

■研发前沿
靶向治疗是目前分子生物学的研究热点. 通过分子水平对粘蛋白调控作用机制的不断研究, 粘蛋白有可能成为GHP有效的基因靶点.

■相关报道
近期有篇关于粘蛋白的报道, 显示在GHP伴低级别不典型增生(low grade dysplasia, LGD)、GHP伴低级别不典型增生(high grade dysplasia, HGD)或癌变的患者中, MUC1的表达模式不同, 所有正常的胃黏膜和85.6%的未伴有不典型增生的GHP, MUC1在细胞质和细胞膜弥漫阳性; 在80%的GHP伴LGD和100%的GHP伴HGD或癌变其MUC1在腔缘侧细胞膜阳性(P<0.001). 即MUC1表达模式2的GHP更具有恶变潜能. 该篇文章从粘蛋白的表达模式揭示GHP的恶变潜能, 新颖, 有实际意义.

(低分化癌)[37,38]. 之前有文献证实, 与消化系的其他息肉类似, 越大的GHP(特别是>2 cm的GHP)发生癌变的危险性越高[32,39,40]. 因此, 研究表明>2 cm的GHP应该被完全切除[41]. 同时, 有文献表明, <2 cm的GHP同样具有癌变潜能[30,42]. 另有一些文章表明, >0.5 cm的GHP均应被切除[43]. 然而, GHP毕竟是一种癌变率较低的病变, 我们还不能将GHP看做是一种癌前病变. 但这样的做法可能是不实用的. 因此, 找出一些在GHP发生癌变时特征性的标志物是GHP研究的重点内容.

6 GHP的分子生物学研究

目前为止, 有关GHP的研究均为小样本分析GHP与胃癌发生的特异性通路的关系. 有一些学者对伴有不典型增生或局灶癌变的GHP患者进行了相关分子生物学的研究. *p53*抑癌基因通过诱导细胞凋亡抑制癌症的发展. *p53*基因的突变和/或蛋白聚集是人类肿瘤(特别是消化系肿瘤)发生最常见的改变之一. 由于杂合子缺失、移码突变等原因, 使得*p53*基因失活, 肿瘤形成[44,45].

有研究显示与正常和增生的胃黏膜相比, 在不典型增生的区域中P53的阳性率明显增加[32,35,46-48]. 并且推测P53的阳性表达在未伴不典型增生或局灶癌变的GHP发展至GHP伴有不典型增生再发展到GHP伴有局灶癌变(GHP-GHP伴有不典型增生-GHP伴局灶癌变)的过程中是一个晚期事件[32,35,46-48]. Murakami等[35]的研究显示, 在GHP-GHP伴有不典型增生-GHP伴有局灶癌变的过程中, P53的阳性表达率逐渐增加, 同时还表明P53的标记指数与GHP的大小具有明显的相关性. 但是, P53在GHP中表达的研究仍存在争议. 在Dijkhuizen等[49]的研究中, P53在GHP的表达呈阴性. Dijkhuizen等[49]同时研究了MDM2以及感染了巨细胞病毒和EB病毒患者的情况, 所有这些研究结果*p53*表达均为阴性. 以上研究结果的不同可能是由于样本数量不同所造成的. Dijkhuizen等[49]研究发现GHP中存在*k-ras*基因的突变. Murakami等[35]的研究显示6%的GHP患者存在*k-ras*基因的突变[32,49]. Dijkhuizen等[49]推断单独的*k-ras*基因突变并不能引起GHP发生肿瘤性转换, 因为在未伴不典型增生或癌变的GHP中同样检测到了*k-ras*基因的突变.

在GHP伴有不典型增生的患者中, 一些学者研究了微卫星的不稳定性(microsatellite instability, MSI), 其发生0%-16.7%[47]. 虽然Nogueira等[47]证实GHP中存在MSI, 但是他并不能解释GHP发生恶性转换与MSI的关系. Weiss等[50]应用基因组杂交方法分析3例GHP和8例腺瘤, 发现所有患者均检测到染色体异常. 腺瘤的染色体异常发生在7q36、20q12和5q14-q21. GHP的染色体异常见于15q11-14、1p21-31和21q11-21.2. 在GHP和腺瘤中均频繁发现9p21.3的染色体缺失. 他们表示, 在胃的癌前病变的研究中, 同样检测到以上染色体的异常, 说明以上染色体异常与胃癌的发生相关. 因此, 他们断言在胃癌的发生中存在双通路概念-GHP通路和腺瘤通路.

Ki-67可作为反映细胞增殖活性的重要指标. 通过Ki-67的表达可以帮助我们判断GHP细胞的增殖情况. Murakami等[35]对GHP细胞中的Ki-67标记指数情况的研究表明, GHP细胞中的Ki-67标记指数明显高于正常胃黏膜细胞, 其差异具有统计学意义. 在GHP伴高级别不典型增生(high grade dysplasia, HGD)的Ki-67标记指数明显高于未伴不典型增生的GHP或GHP伴低级别不典型增生(low grade dysplasia, LGD)的Ki-67标记指数, 其差异具有统计学意义. 在一例对GHP伴印戒细胞癌的研究结果显示, Ki-67在癌组织和癌组织周围的小凹上皮细胞中的阳性率分别为72.3%和70.5%, 但是在距癌组织较远处的小凹上皮细胞中的阳性表达率仅4.5%[11].

Murakami等[35]研究了$p21^{WAF1/CIP1}$和Cyclin D1在GHP的表达情况. 他们证实, 在GHP-GHP伴有不典型增生-GHP伴有局灶癌变的过程中, $p21^{WAF1/CIP1}$和Cyclin D1的表达逐渐减少.

其他学者也试图研究其他的标志物(如: ERB-2, APC, DCC, LOH)以阐明GHP发生癌变的机制[32,47,49]. 然而, 目前为止未发现提示GHP癌变有价值的标志物.

7 GHP与粘蛋白表型的关系

粘蛋白(mucin, MUC)是一类高分子量的糖蛋白, 目前已发现20种MUC. 根据其结构和功能分为分泌型和膜结合型2大类[51]. 分泌型粘蛋白包括MUC2、MUC5AC、MUC5B、MUC6、MUC7、MUC8、MUC9和MUC19. 编码前四种蛋白的基因位于染色体11q15.5上. 这些MUC在维持胃肠道正常的生理过程、肿瘤的发生、发展及转移中扮演着重要的角色[51]. MUC1是克隆最早的跨膜粘蛋白, 定位于染色体1q21-24[52,53]. MUC1在许多分泌型上皮细胞的顶端表达[51]. MUC2主要表达于小肠和结肠

的杯状细胞中[52,54,55]. MUC3主要表达在胃肠道上皮细胞中, 其基因定位于染色体7q22[51]. 胃癌组织中, MUC3的阳性表达与患者的不良预后相关[56]. MUC5AC主要表达在胃肠道和支气管上皮细胞中, 在胃小凹上皮细胞呈高表达[57]. MUC5B主要表达在支气管、唾液腺和食管上皮中. MUC6主要表达在胃及十二指肠的黏液腺体中[58,59].

越来越多的研究报道了胃癌的发生、预后以及临床病理学因素与MUC1、MUC2、MUC3、MUC5AC和MUC6的表达相关[56,60-68]. 也有研究显示在GHP伴LGD、GHP伴HGD和GHP伴局灶癌变的患者中MUC5AC的表达量逐渐减少. 与未伴有不典型增生或癌变的GHP相比, MUC2在GHP伴有不典型增生或局部癌变的患者中表达量明显升高[44,68].

近期有研究表明在GHP伴LGD、GHP伴HGD或癌变的患者中, MUC1的表达模式不同. 在所有正常的胃黏膜和85.6%未伴有不典型增生的GHP中, MUC1为第一种表达模式: 在细胞质和细胞膜弥漫阳性. 在80%GHP伴LGD和100%GHP伴HGD或癌变中, MUC1为第二种表达模式: 在腔缘侧细胞膜阳性(P<0.001)[68]. 此研究结果还证实, 在伴有不典型增生或癌变的GHP中MUC1的表达与未伴有不典型增生或癌变的GHP中相比, MUC1的表达多呈第二种表达模式(P<0.01), 但此种表达模式的发生机制还没有明确的结论.

许多研究已经表明在各种炎性或恶性疾病中均可检测到粘蛋白的异常表达. 粘蛋白的表达与恶性疾病的进展具有一定的相关性[51]. 粘蛋白可以作为一种区分正常和病变组织的良好标志物[51].

8 结论

GHP是胃中最常见的息肉类型, 他不同于结肠直肠的增生性息肉. GHP是胃黏膜病变的警钟. 近年来一些研究已经证实GHP具有一定的癌变潜能. 有一些研究结果提示GHP的癌变过程为: GHP→不典型增生→局灶癌变. 从遗传学角度对GHP的研究很少, 虽然一些研究试图寻找能特征性提示GHP将发生恶性转变的标志物, 但是至今仍未发现. 粘蛋白可能是在恶性肿瘤的早期阶段检测、治疗及提示肿瘤预后的良好标志物. 研究GHP的遗传学和粘蛋白的表达情况可能是将来研究的重点内容.

9 参考文献

1 Jain R, Chetty R. Gastric hyperplastic polyps: a review. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 1839-1846 [PMID: 19037727 DOI: 10.1007/s10620-008-0572-8]
2 Borch K, Skarsgård J, Franzén L, Mårdh S, Rehfeld JF. Benign gastric polyps: morphological and functional origin. *Dig Dis Sci* 2003; 48: 1292-1297 [PMID: 12870785]
3 Jayawardena S, Anandacoomaraswamy D, Burzyantseva O, Abdullah M. Isolated diffuse hyperplastic gastric polyposis presenting with severe anemia. *Cases J* 2008; 1: 130 [PMID: 18755016 DOI: 10.1186/1757-1626-1-130]
4 Snover DC. Benign epithelial polyps of the stomach. *Pathol Annu* 1985; 20: 303-329 [PMID: 3991240]
5 Deppisch LM, Rona VT. Gastric epithelial polyps. A 10-year study. *J Clin Gastroenterol* 1989; 11: 110-115 [PMID: 2921485]
6 Seifert E, Gail K, Weismüller J. Gastric polypectomy. Long-term results (survey of 23 centres in Germany). *Endoscopy* 1983; 15: 8-11 [PMID: 6822229]
7 Ljubicić N, Kujundzić M, Roić G, Banić M, Cupić H, Doko M, Zovak M. Benign epithelial gastric polyps--frequency, location, and age and sex distribution. *Coll Antropol* 2002; 26: 55-60 [PMID: 12137323]
8 Mishra R, Stelow EB, Powell S, Shami VM. Poorly differentiated adenocarcinoma arising from a hyperplastic polyp: which polyps should be endoscopically resected? *Dig Dis Sci* 2007; 52: 1586-1588 [PMID: 17415638]
9 Hirasaki S, Kanzaki H, Fujita K, Matsumura S, Matsumoto E, Yumoto E, Suzuki S. Papillary adenocarcinoma occurring in a gastric hyperplastic polyp observed by magnifying endoscopy and treated with endoscopic mucosal resection. *Intern Med* 2008; 47: 949-952 [PMID: 18480580]
10 Hirasaki S, Suzuki S, Kanzaki H, Fujita K, Matsumura S, Matsumoto E. Minute signet ring cell carcinoma occurring in gastric hyperplastic polyp. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 5779-5780 [PMID: 17963309]
11 Hirano H, Yoshida T, Yoshimura H, Fukuoka M, Ohkubo E, Tachibana S, Saito H, Nakasho K, Nishigami T. Poorly differentiated adenocarcinoma with signet-ring cell carcinoma in a hyperplastic polyp of the stomach: report of a case. *Surg Today* 2007; 37: 901-904 [PMID: 17879044]
12 Saravanan R, Kamalaporn P, Streutker C, May G, Kandel G, Marcon N, Kortan P. Gastric polyp in pernicious anemia: an argument to remove even when biopsy shows hyperplasia. *Endoscopy* 2008; 40 Suppl 2: E77-E78 [PMID: 18633890 DOI: 10.1055/s-2007-995506]
13 Abraham SC, Singh VK, Yardley JH, Wu TT. Hyperplastic polyps of the stomach: associations with histologic patterns of gastritis and gastric atrophy. *Am J Surg Pathol* 2001; 25: 500-507 [PMID: 11257625]
14 Morais DJ, Yamanaka A, Zeitune JM, Andreollo NA. Gastric polyps: a retrospective analysis of 26,000 digestive endoscopies. *Arq Gastroenterol* 2007; 44: 14-17 [PMID: 17639176]
15 Bonilla Palacios JJ, Miyazaki Y, Kanayuma S, Yasunaga Y, Matsuzawa Y. Serum gastrin, pepsinogens, parietal cell and Helicobacter pylori antibodies in patients with gastric polyps. *Acta Gastroenterol Latinoam* 1994; 24: 77-82 [PMID: 7817697]
16 Saccá N. Hyperplastic gastric polyps and Helico-

■创新盘点

粘蛋白在肿瘤的早期诊断、判断预后及临床治疗等方面具有一定意义, 可作为判断GHP恶性潜能的参考指标. GHP伴LGD、GHP伴HGD和GHP伴局灶癌变的患者中MUC5AC的表达量逐渐减少, 与未伴有不典型增生或癌变的GHP相比, MUC2在GHP伴有不典型增生或局部癌变的患者中表达量明显升高. 粘蛋白在肿瘤的早期诊断、判断预后及临床治疗等方面具有一定意义, 可作为判断GHP恶性潜能的参考指标.

■应用要点
研究GHP的发病机制可以揭示GHP的发生、发展规律. 在GHP恶变的早期诊断方面具有一定意义.

bacter pylori. *Scand J Gastroenterol* 2003; 38: 904 [PMID: 12940447]
17 Park do Y, Lauwers GY. Gastric polyps: classification and management. *Arch Pathol Lab Med* 2008; 132: 633-640 [PMID: 18384215 DOI: 10.1043/1543-2165]
18 Bosman FT,Carneiro F, Hruban RH. World Health Organization Classification of tumors. Pathology and Genetics Tumours of the Digestive System. Lyon: IARC, 2010
19 Lai M. [Preneoplastic and preinvasive lesions of the esophagus and stomach]. *Pathologe* 2011; 32 Suppl 2: 1-2, 195-196 [PMID: 22033681 DOI: 10.1007/s00292-011-1511-6]
20 Orlowska J, Jarosz D, Pachlewski J, Butruk E. Malignant transformation of benign epithelial gastric polyps. *Am J Gastroenterol* 1995; 90: 2152-2159 [PMID: 8540506]
21 Ljubicić N, Banić M, Kujundzić M, Antić Z, Vrkljan M, Kovacević I, Hrabar D, Doko M, Zovak M, Mihatov S. The effect of eradicating Helicobacter pylori infection on the course of adenomatous and hyperplastic gastric polyps. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999; 11: 727-730 [PMID: 10445791]
22 Ji F, Wang ZW, Ning JW, Wang QY, Chen JY, Li YM. Effect of drug treatment on hyperplastic gastric polyps infected with Helicobacter pylori: a randomized, controlled trial. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 1770-1773 [PMID: 16586550]
23 Ohkusa T, Miwa H, Hojo M, Kumagai J, Tanizawa T, Asaoka D, Terai T, Ohkura R, Sato N. Endoscopic, histological and serologic findings of gastric hyperplastic polyps after eradication of Helicobacter pylori: comparison between responder and non-responder cases. *Digestion* 2003; 68: 57-62 [PMID: 14581761]
24 Isomoto H, Furusu H, Ohnita K, Takehara Y, Wen CY, Kohno S. Effect of Helicobacter pylori eradication on gastric hyperplastic polyposis in Cowden's disease. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 1567-1569 [PMID: 15770740]
25 Carmack SW, Genta RM, Schuler CM, Saboorian MH. The current spectrum of gastric polyps: a 1-year national study of over 120,000 patients. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 1524-1532 [PMID: 19491866 DOI: 10.1038/ajg.2009.139]
26 Jewell KD, Toweill DL, Swanson PE, Upton MP, Yeh MM. Gastric hyperplastic polyps in post transplant patients: a clinicopathologic study. *Mod Pathol* 2008; 21: 1108-1112 [PMID: 18500262 DOI: 10.1038/modpathol.2008.87]
27 Dirschmid K, Platz-Baudin C, Stolte M. Why is the hyperplastic polyp a marker for the precancerous condition of the gastric mucosa? *Virchows Arch* 2006; 448: 80-84 [PMID: 16189701]
28 Pashankar DS, Israel DM. Gastric polyps and nodules in children receiving long-term omeprazole therapy. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002; 35: 658-662 [PMID: 12454582]
29 Carmack SW, Genta RM, Graham DY, Lauwers GY. Management of gastric polyps: a pathology-based guide for gastroenterologists. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2009; 6: 331-341 [PMID: 19421245 DOI: 10.1038/nrgastro.2009.70]
30 Ginsberg GG, Al-Kawas FH, Fleischer DE, Reilly HF, Benjamin SB. Gastric polyps: relationship of size and histology to cancer risk. *Am J Gastroenterol* 1996; 91: 714-717 [PMID: 8677935]
31 Hattori T. Morphological range of hyperplastic polyps and carcinomas arising in hyperplastic polyps of the stomach. *J Clin Pathol* 1985; 38: 622-630 [PMID: 4008664]
32 Zea-Iriarte WL, Sekine I, Itsuno M, Makiyama K, Naito S, Nakayama T, Nishisawa-Takano JE, Hattori T. Carcinoma in gastric hyperplastic polyps. A phenotypic study. *Dig Dis Sci* 1996; 41: 377-386 [PMID: 8601386]
33 Kono T, Imai Y, Ichihara T, Miyagawa K, Kanemitsu K, Ajiki T, Kawasaki K, Kamigaki T, Ikuta H, Ohbayashi C, Yokozaki H, Fujimori T, Kuroda Y. Adenocarcinoma arising in gastric inverted hyperplastic polyp: a case report and review of the literature. *Pathol Res Pract* 2007; 203: 53-56 [PMID: 17097828]
34 Okano A, Takakuwa H, Matsubayashi Y. Gastric intramucosal carcinoma in a small hyperplastic foveolar polyp. *Endoscopy* 2004; 36: 1134 [PMID: 15578317]
35 Murakami K, Mitomi H, Yamashita K, Tanabe S, Saigenji K, Okayasu I. p53, but not c-Ki-ras, mutation and down-regulation of p21WAF1/CIP1 and cyclin D1 are associated with malignant transformation in gastric hyperplastic polyps. *Am J Clin Pathol* 2001; 115: 224-234 [PMID: 11211611]
36 Han AR, Sung CO, Kim KM, Park CK, Min BH, Lee JH, Kim JY, Chang DK, Kim YH, Rhee PL, Rhee JC, Kim JJ. The clinicopathological features of gastric hyperplastic polyps with neoplastic transformations: a suggestion of indication for endoscopic polypectomy. *Gut Liver* 2009; 3: 271-275 [PMID: 20431760 DOI: 10.5009/gnl.2009.3.4.271]
37 Long KB, Odze RD. Gastroesophageal junction hyperplastic (inflammatory) polyps: a clinical and pathologic study of 46 cases. *Am J Surg Pathol* 2011; 35: 1038-1044 [PMID: 21606824 DOI: 10.1097/PAS.0b013e3182189425]
38 Fry LC, Lazenby AJ, Lee DH, Mönkemüller K. Signet-ring-cell adenocarcinoma arising from a hyperplastic polyp in the stomach. *Gastrointest Endosc* 2005; 61: 493-495 [PMID: 15758936]
39 Daibo M, Itabashi M, Hirota T. Malignant transformation of gastric hyperplastic polyps. *Am J Gastroenterol* 1987; 82: 1016-1025 [PMID: 3661508]
40 Kamiya T, Morishita T, Asakura H, Munakata Y, Miura S, Tsuchiya M. Histoclinical long-standing follow-up study of hyperplastic polyps of the stomach. *Am J Gastroenterol* 1981; 75: 275-281 [PMID: 7258173]
41 Orlowska J, Kupryjanczyk J. Malignant transformation of gastric hyperplastic polyps. *Am J Clin Pathol* 2002; 117: 165-166 [PMID: 11789722]
42 Hizawa K, Fuchigami T, Iida M, Aoyagi K, Iwashita A, Daimaru Y, Fujishima M. Possible neoplastic transformation within gastric hyperplastic polyp. Application of endoscopic polypectomy. *Surg Endosc* 1995; 9: 714-718 [PMID: 7482172]
43 Muehldorfer SM, Stolte M, Martus P, Hahn EG, Ell C. Diagnostic accuracy of forceps biopsy versus polypectomy for gastric polyps: a prospective multicentre study. *Gut* 2002; 50: 465-470 [PMID: 11889063]
44 Stock M, Otto F. Gene deregulation in gastric cancer. *Gene* 2005; 360: 1-19 [PMID: 16154715]
45 Weisz L, Oren M, Rotter V. Transcription regulation by mutant p53. *Oncogene* 2007; 26: 2202-2211 [PMID: 17401429]
46 Yao T, Kajiwara M, Kuroiwa S, Iwashita A, Oya

M, Kabashima A, Tsuneyoshi M. Malignant transformation of gastric hyperplastic polyps: alteration of phenotypes, proliferative activity, and p53 expression. *Hum Pathol* 2002; 33: 1016-1022 [PMID: 12395375]
47 Nogueira AM, Carneiro F, Seruca R, Cirnes L, Veiga I, Machado JC, Sobrinho-Simões M. Microsatellite instability in hyperplastic and adenomatous polyps of the stomach. *Cancer* 1999; 86: 1649-1656 [PMID: 10547536]
48 Lauwers GY, Wahl SJ, Melamed J, Rojas-Corona RR. p53 expression in precancerous gastric lesions: an immunohistochemical study of PAb 1801 monoclonal antibody on adenomatous and hyperplastic gastric polyps. *Am J Gastroenterol* 1993; 88: 1916-1919 [PMID: 8237942]
49 Dijkhuizen SM, Entius MM, Clement MJ, Polak MM, Van den Berg FM, Craanen ME, Slebos RJ, Offerhaus GJ. Multiple hyperplastic polyps in the stomach: evidence for clonality and neoplastic potential. *Gastroenterology* 1997; 112: 561-566 [PMID: 9024310]
50 Weiss MM, Kuipers EJ, Postma C, Snijders AM, Stolte M, Vieth M, Pinkel D, Meuwissen SG, Albertson D, Meijer GA. Genome wide array comparative genomic hybridisation analysis of premalignant lesions of the stomach. *Mol Pathol* 2003; 56: 293-298 [PMID: 14514924]
51 Rachagani S, Torres MP, Moniaux N, Batra SK. Current status of mucins in the diagnosis and therapy of cancer. *Biofactors* 2009; 35: 509-527 [PMID: 19904814 DOI: 10.1002/biof.64]
52 Kufe DW. Mucins in cancer: function, prognosis and therapy. *Nat Rev Cancer* 2009; 9: 874-885 [PMID: 19935676 DOI: 10.1038/nrc2761]
53 Hattrup CL, Gendler SJ. Structure and function of the cell surface (tethered) mucins. *Annu Rev Physiol* 2008; 70: 431-457 [PMID: 17850209]
54 Holmes K, Egan B, Swan N, O'Morain C. Genetic Mechanisms and Aberrant Gene Expression during the Development of Gastric Intestinal Metaplasia and Adenocarcinoma. *Curr Genomics* 2007; 8: 379-397 [PMID: 19412438 DOI: 10.2174/138920207783406460]
55 Kim YS, Ho SB. Intestinal goblet cells and mucins in health and disease: recent insights and progress. *Curr Gastroenterol Rep* 2010; 12: 319-330 [PMID: 20703838 DOI: 10.1007/s11894-010-0131-2]
56 Wang RQ, Fang DC. Alterations of MUC1 and MUC3 expression in gastric carcinoma: relevance to patient clinicopathological features. *J Clin Pathol* 2003; 56: 378-384 [PMID: 12719460]
57 Reis CA, David L, Nielsen PA, Clausen H, Mirgorodskaya K, Roepstorff P, Sobrinho-Simões M. Immunohistochemical study of MUC5AC expression in human gastric carcinomas using a novel monoclonal antibody. *Int J Cancer* 1997; 74: 112-121 [PMID: 9036879]
58 Leteurtre E, Zerimech F, Piessen G, Wacrenier A, Leroy X, Copin MC, Mariette C, Aubert JP, Porchet N, Buisine MP. Relationships between mucinous gastric carcinoma, MUC2 expression and survival. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 3324-3331 [PMID: 16733847]
59 Buisine MP, Devisme L, Maunoury V, Deschodt E, Gosselin B, Copin MC, Aubert JP, Porchet N. Developmental mucin gene expression in the gastroduodenal tract and accessory digestive glands. I. Stomach. A relationship to gastric carcinoma. *J Histochem Cytochem* 2000; 48: 1657-1666 [PMID: 11101634]
60 Oz Puyan F, Can N, Ozyilmaz F, Usta U, Sut N, Tastekin E, Altaner S. The relationship among PDX1, CDX2, and mucin profiles in gastric carcinomas; correlations with clinicopathologic parameters. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011; 137: 1749-1762 [PMID: 21909647 DOI: 10.1007/s00432-011-1044-7]
61 İlhan Ö, Han Ü, Önal B, Çelık SY. Prognostic significance of MUC1, MUC2 and MUC5AC expressions in gastric carcinoma. *Turk J Gastroenterol* 2010; 21: 345-352 [PMID: 21331986]
62 Carvalho F, David L, Aubert JP, López-Ferrer A, De Bolós C, Reis CA, Gärtner F, Peixoto A, Alves P, Sobrinho-Simões M. Mucins and mucin-associated carbohydrate antigens expression in gastric carcinoma cell lines. *Virchows Arch* 1999; 435: 479-485 [PMID: 10592051]
63 Resende C, Thiel A, Machado JC, Ristimäki A. Gastric cancer: basic aspects. *Helicobacter* 2011; 16 Suppl 1: 38-44 [PMID: 21896084 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2011.00879.x]
64 Saeki N, Saito A, Choi IJ, Matsuo K, Ohnami S, Totsuka H, Chiku S, Kuchiba A, Lee YS, Yoon KA, Kook MC, Park SR, Kim YW, Tanaka H, Tajima K, Hirose H, Tanioka F, Matsuno Y, Sugimura H, Kato S, Nakamura T, Nishina T, Yasui W, Aoyagi K, Sasaki H, Yanagihara K, Katai H, Shimoda T, Yoshida T, Nakamura Y, Hirohashi S, Sakamoto H. A functional single nucleotide polymorphism in mucin 1, at chromosome 1q22, determines susceptibility to diffuse-type gastric cancer. *Gastroenterology* 2011; 140: 892-902 [PMID: 21070779 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.10.058]
65 Benjamin JB, Jayanthi V, Devaraj H. MUC1 expression and its association with other aetiological factors and localization to mitochondria in preneoplastic and neoplastic gastric tissues. *Clin Chim Acta* 2010; 411: 2067-2072 [PMID: 20832392 DOI: 10.1016/j.cca.2010.09.003]
66 Satoh Y, Mori K, Kitano K, Kitayama J, Yokota H, Sasaki H, Uozaki H, Fukayama M, Seto Y, Nagawa H, Yatomi Y, Takai D. Analysis for the combination expression of CK20, FABP1 and MUC2 is sensitive for the prediction of peritoneal recurrence in gastric cancer. *Jpn J Clin Oncol* 2012; 42: 148-152 [PMID: 22172348 DOI: 10.1093/jjco/hyr179]
67 Jia Y, Persson C, Hou L, Zheng Z, Yeager M, Lissowska J, Chanock SJ, Chow WH, Ye W. A comprehensive analysis of common genetic variation in MUC1, MUC5AC, MUC6 genes and risk of stomach cancer. *Cancer Causes Control* 2010; 21: 313-321 [PMID: 19924550 DOI: 10.1007/s10552-009-9463-3]
68 李娟, 吴丽华, 石岩, 焦宇飞. MUC1,MUC2和MUC3在胃增生性息肉中的表达模式. 世界华人消化杂志 2011; 19: 3591-3596

■同行评价
本文选题很新颖, 具有一定的临床意义.

编辑 李军亮 电编 闫晋利

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2013年4月28日; 21(12): 1096-1101
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

RNA干扰在胃癌多药耐药中的研究进展

廉 超, 谢玉波, 肖 强

■背景资料
胃癌是全世界最常见的恶性肿瘤之一, 居癌症病死率第2位. 早期胃癌治疗以手术为主, 化疗为辅, 晚期胃癌则以化疗为主要手段. 但由于多药耐药的产生, 疗效往往不佳, 直接影响患者预后, 如何逆转胃癌多药耐药性已成为当前研究热点.

廉超, 肖强, 广西医科大学第一附属医院胃肠腺体外科 广西壮族自治区南宁市 530021
谢玉波, 广西医科大学第一附属医院麻醉科 广西壮族自治区南宁市 530021
廉超, 硕士, 主要从事胃癌的基础与临床研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 30860273; No. 81060201
广西自然科学基金资助项目, No. 2011GXNSFA018273
广西科学研究与技术开发计划项目, No. 桂科攻1298003-2-6
作者贡献分布: 本文综述由廉超完成; 谢玉波修改; 肖强审校.
通讯作者: 肖强, 教授, 主任医师, 博士生导师, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路22号, 广西医科大学第一附属医院胃肠腺体外科. xiaoqiang20050@yahoo.com.cn
电话: 0771-5358325
收稿日期: 2013-02-21 修回日期: 2013-03-06
接受日期: 2013-04-07 在线出版日期: 2013-04-28

Role of RNA interference in research of multidrug resistance in gastric cancer

Chao Lian, Yu-Bo Xie, Qiang Xiao

Chao Lian, Qiang Xiao, Department of Gastrointestinal Gland Surgery, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Yu-Bo Xie, Department of Anesthesiology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 30860273 and 81060201; the Natural Science Foundation of Guangxi, No. 2011GXNSFA018273; the Science and Technology Development Project of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. 1298003-2-6
Correspondence to: Qiang Xiao, Professor, Chief Physician, Department of Gastrointestinal Gland Surgery, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 22 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. xiaoqiang20050@yahoo.com.cn
Received: 2013-02-21 Revised: 2013-03-06
Accepted: 2013-04-07 Published online: 2013-04-28

Abstract
Gastric cancer is one of the most common malignant tumors in the world. Chemotherapy is the main treatment for gastric cancer after operation. However, multidrug resistance of tumor cells always reduces its effectiveness and influences the prognosis of patients directly. For this reason, more and more scientific researchers have been dedicated to the in-depth study of multidrug resistance in gastric cancer. RNA interference allows specific and effective inhibition of the expression of target genes and has been gradually applied to gene treatment for multidrug resistance in gastric cancer. The widespread use of RNA interference in recent years has led to many achievements. This article aims to review the role of RNA interference in research of multidrug resistance in gastric cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: RNA interference; Gastric cancer; Multidrug resistance

Lian C, Xie YB, Xiao Q. Role of RNA interference in research of multidrug resistance in gastric cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(12): 1096-1101 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1096.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1096

摘要
胃癌是最常见的恶性肿瘤之一, 化疗是胃癌术后的主要治疗措施, 而多药耐药性的产生常导致化疗失败, 严重阻碍化疗进程, 直接影响患者预后, 因而促使人们对胃癌多药耐药问题进行深入研究. RNA干扰技术能特异、有效地阻断靶基因的表达, 近年来已逐渐应用于胃癌多药耐药的基因治疗, 并取得了较大进展. 本文就目前RNA干扰在胃癌多药耐药研究中的相关进展作一综述.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: RNA干扰; 胃癌; 多药耐药

核心提示: 化疗是胃癌术后的主要治疗措施, 而多药耐药性的产生常导致化疗失败, 直接影响患者预后. 近年研究证实, 多种基因与胃癌多药耐药密切相关, 而通过RNA干扰技术介导特定耐药相关基因沉默可有效提高胃癌化疗敏感性, 并在一定程度上逆转胃癌多药耐药性.

廉超, 谢玉波, 肖强. RNA干扰在胃癌多药耐药中的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(12): 1096-1101 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1096.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1096

■同行评议者
潘阳林, 副教授, 副主任医师, 第四军医大学西京医院消化病医院消化六科; 吴建兵, 教授, 主任医师, 南昌大学第二附属医院肿瘤科

0 引言

胃癌是全世界最常见的恶性肿瘤之一, 居癌症病死率第2位[1]. 早期胃癌治疗以手术为主, 化疗为辅, 晚期胃癌则以化疗为主要手段. 但由于多药耐药的产生, 疗效往往不佳, 直接影响患者预后, 如何逆转胃癌多药耐药性业已成为当前研究热点[2]. RNA干扰技术(RNA interference, RNAi)是近年来发展起来的一项新的基因沉默技术, 能特异、有效地阻断靶基因的表达, 因其具有高效、快速、高度特异性、作用区域广泛、操作简易等诸多优点, 目前已被广泛应用于探索基因功能及恶性肿瘤基因治疗领域[3,4]. 该技术也被认为是逆转肿瘤多药耐药性最有效的方法之一[5]. 随着国内外学者对胃癌多药耐药性问题研究的不断深入, RNA干扰技术已逐渐应用于胃癌多药耐药的基因治疗, 并取得了一些突破性的进展. 本文就近年来RNA干扰在胃癌多药耐药研究中的最新进展作一综述.

1 RNAi技术原理

RNA干扰机制迄今仍在不断探索中, 尚未完全阐明, 但公认的基本原理是: 内源或外源性双链RNA(double-stranded RNA, dsRNA)通过细胞膜进入细胞后, 被一种RNA内切酶III(RNA endonuclease III, RNase III)-Dicer酶识别并切割降解成21-23 nt的小RNA双链, 即由正义链、反义链组成的RNAi效应中间产物-小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA). 之后, siRNA与Dicer酶结合形成RNA诱导沉默复合体(RNA induced silencing complex, RISC). 在RNA解旋酶及三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)作用下, siRNA解螺旋, RISC被激活. 活化的RISC以siRNA为模板, 按照碱基互补原则特异地识别与其同源的靶mRNA, 随后Dicer酶即开始对其进行递进式剪切, 形成强有力的瀑布效应, 最终这些断裂的RNA小分子在核酸酶的作用下被完全降解, 从而导致了目的基因的沉默[6,7].

2 RNAi在胃癌多药耐药研究中的应用

肿瘤多药耐药性(multidrug resistance, MDR)是指肿瘤细胞对一种药物具有耐药性的同时, 对其他结构不同、作用靶点不同的抗肿瘤药物也产生耐药性. 而多药耐药性的产生是导致抗感染药物治疗和肿瘤化疗失败的重要原因之一[8,9]. 近年来研究发现, 胃癌多药耐药性与某些基因密切相关, 通过调控这些基因的表达可有效提高胃癌细胞对化疗药物的敏感性, 并在一定程度上逆转胃癌多药耐药性[10]. 为进一步阐明胃癌多药耐药与相关基因的机制联系, 国内外学者基于RNA干扰技术已做了大量研究. RNAi在胃癌多药耐药研究中的应用主要涉及耐药相关跨膜转运蛋白、耐药相关酶、转录调控因子及凋亡相关基因等4个方面.

2.1 RNAi在耐药相关跨膜转运蛋白中的应用

2.1.1 MDR1/P-gp: 多药耐药基因1(mutidrug resistance gene 1, *MDR1*)是最早发现和最重要的多药耐药相关基因, 而由MDR1编码的P-糖蛋白(P-glycopmtein, P-gP)作为一种ATP依赖性药物泵, 能将细胞内药物泵出, 降低细胞内药物浓度, 减免细胞内药物毒性, 是导致MDR最直接原因, P-gp介导的MDR也被称为经典多药耐药途径[11,12]. 近年研究表明, 通过下调MDR1/P-gP表达水平, 可有效逆转胃癌多药耐药性, MDR1/P-gP也被认为是RNA干扰逆转胃癌多药耐药的最佳靶点[13]. Nieth等[14]应用RNA干扰技术, 以MDR-1 siRNA转染人胃癌EPG85-257RDB细胞, 结果发现, 转染后胃癌细胞MDR1的表达被明显抑制, 而与转染前相比, 转染后胃癌细胞对柔红霉素的耐药性显著降低, 提示RNAi抑制MDR1的表达可有效逆转由P-gp介导的胃癌多药耐药. 与此同时, Stege等[15]将针对MDR1/P-gP设计的短发卡RNA(shRNA)成功导入人胃癌细胞EPG85-257RDB, 发现MDR1/P-gP表达水平显著下降, 并使转染组细胞内的蒽环霉素蓄积量大幅提升, 提示RNA干扰介导的MDR1/P-gP下调可有效逆转胃癌细胞多药耐药性.

2.1.2 多药耐药相关蛋白: 多药耐药相关蛋白(multidrug resistance associated-protein, MRP)是继P-gp之后发现的第2个ATP结合盒(ATP binding cassette, ABC)跨膜转运蛋白超家族成员, 也是一种ATP依赖的多药耐药相关药物泵, MRP通过谷胱甘肽(glutathione, GSH)与药物的共价结合实现转运, 从而导致肿瘤细胞的多药耐药[16,17]. Endo等[18]应用RT-PCR、Southern blot及免疫组织化学法分别检测4种胃癌细胞株MRP的表达水平, 发现4种胃癌细胞株中有3种MRP表达阳性, 之后通过MTT法分别检测胃癌细胞对阿霉素、顺铂、依托泊甙等化疗药物的敏感性, 研究表明, MRP阴性细胞株对以上3种化疗药物的敏感性均显著高于MRP阳性细胞株, 提示MRP的表达水平与胃癌多药耐药密切相关, 干扰MRP的表达将有可能逆转胃癌多药耐药性. MRP4

■研发前沿

近年来研究发现, 胃癌多药耐药性与某些基因密切相关, 通过调控这些基因的表达可有效提高胃癌细胞对化疗药物的敏感性, 并在一定程度上逆转胃癌多药耐药性. 而RNA干扰技术的问世无疑为胃癌多药耐药研究带来了崭新的契机.

■相关报道
近年来国内外学者基于RNA干扰技术已做了大量研究, 发现RNAi介导某些特定基因沉默可有效提高胃癌化疗敏感性, 甚至逆转胃癌多药耐药性, 其应用范畴主要涉及耐药相关跨膜转运蛋白、耐药相关酶、转录调控因子及凋亡相关基因等4个方面.

是MRP亚家族成员之一, 不仅参与调控多种细胞内信号通路, 更与胞内药物泵出、促使细胞生存密切相关[19]. Zhang等[20]通过RNA干扰技术, 将MRP小干扰RNA转染人胃癌耐顺铂细胞SGC-7901/DDP, 研究发现, MRP siRNA导入细胞后, MRP蛋白及mRNA的表达水平均显著降低, 并成功逆转胃癌耐药细胞多药耐药性.

2.2 RNAi在耐药相关酶中的应用

2.2.1 Akt/PKB: PI3K/Akt通路作为细胞内重要的信号转导系统, 广泛存在于细胞中, 参与细胞的生长、增殖和分化调节, 并与肿瘤发生发展关系密切, 而Akt是PI3K/Akt信号通路的中心环节[21]. Akt是一种丝/苏氨酸蛋白激酶, 通常也被称作蛋白激酶B(protein kinase B, PKB). 近年研究表明, Akt不仅与胃癌的发生发展紧密联系, 更与胃癌化疗敏感性密切相关[22]. Han等[23]通过构建真核质粒载体Akt1 siRNA, 将其转入胃癌细胞株AGS, 发现转染后Akt1表达量显著降低, 并明显提高胃癌细胞AGS对长春新碱(vincristine, VCR)、阿霉素(adriamycin, ADR)、氟尿嘧啶(5-fludrouracil, 5-FU)及顺铂(cisplatin, DDP)等多种化疗药物的敏感性. Zhou等[24]应用RNA干扰技术将Akt1沉默慢病毒成功转入胃癌细胞株SGC-7901和BGC-823, 结果发现, Akt1沉默在体外和体内环境下均可显著抑制胃癌细胞增殖并诱导细胞凋亡. 此外, Akt表达下调后, SGC-7901及BGC-823对DDP的敏感性均显著提高, 并认为其机制可能与Akt下调后使PI3K/Akt1通路失活有关.

2.2.2 GST-π: 谷胱甘肽转移酶(glutathion-S-transferase, GST)是一类多功能药物代谢酶, 为细胞抗损伤、抗癌变的主要解毒系统, 临床上应用的许多药物都是在GST催化下通过与谷胱甘肽(glutathion, GSH)结合而解毒. 谷胱甘肽转移酶有5个亚型, 而其中胎盘型GST(GST-π)就占90%左右, 是肿瘤细胞和组织中最常见的同功酶. GST-π由谷胱甘肽转移酶P1(glutathione S-transferase P1, *GSTP1*)基因编码合成, 并与肿瘤发生和耐药均密切相关[25,26]. Townsend等[27]研究认为, GST-π增高导致肿瘤耐药的机制可能有以下几个方面: (1)GST-π可将化疗药物产生的过氧化物还原为无毒物质; (2)GST-π可抑制烷化剂等亲电性化疗药物引起的肿瘤细胞DNA交联, 从而降低化疗药物对细胞的杀伤作用; (3)GST-π不仅能够催化亲电物质与谷胱甘肽结合, 其本身亦可与亲脂性细胞毒药物结合, 并增加其水溶性, 促进其代谢, 从而降低化疗药物的细胞毒作用. GST-π表达越强, 化疗药物毒性作用降低越明显, 肿瘤细胞对化疗的药物的耐受性就越强. 韩杰等[28]通过对54例胃癌和大肠癌新鲜肿瘤组织及转移淋巴结进行肿瘤细胞培养化疗药敏性实验并针对原发灶和转移灶中的P-gP和GST-π行免疫组织化学染色, 结果发现, 无论是在原发灶还是在转移灶, GST-π表达程度均与化疗药物5-FU、VCR的抑制率呈明显负相关. Zhang等[29]则进一步证实, 虽同为胃癌细胞株, 但MGC-803细胞对顺铂的敏感性却明显高于BGC-823及SGC-7901. 之后他们又对3种细胞株GSTP1 mRNA及蛋白的表达水平进行了检测, 结果却发现, MGC-803细胞中未能检测到有GSTP1表达, 而BGC-823和SGC-7901均有GSTP1表达. 研究提示, GSTP1的表达缺失很可能是导致MGC-803胃癌细胞顺铂敏感性显著提高的主要原因, 而抑制GSTP1的表达将可能从整体上提高胃癌细胞对化疗药物的敏感性. 在前列腺癌研究领域, 金鹏等[30]已率先采用RNA干扰技术, 将针对GSTP1设计的短发卡RNA(shRNA)转染人前列腺癌细胞株Du145介导*GSTP1*基因沉默, 发现细胞增殖活性受到明显抑制, 诱导凋亡, 并显著提高Du145细胞对5-FU的化疗敏感性. 虽然目前尚无RNA干扰胃癌GSTP1表达的化疗敏感性研究, 但其潜在的可行性已为我们指明了未来的研究方向.

2.3 RNAi在转录调控因子中的应用

2.3.1 RUNX3: RUNT相关转录因子3(runt-related transcription factor 3, RUNX3)作为*RUNT*基因家族成员之一, 在细胞增殖和分化中起重要作用. RUNT与人类多种恶性肿瘤的发生发展密切相关, 被认为是一种肿瘤抑制基因[31]. Guo等[32]研究发现, RUNX3 siRNA可明显介导胃癌细胞SGC-7901多药耐药的发生, 相反, RUNX过表达则使胃癌细胞SGC-7901对多种化疗药物的敏感性显著提高, 并明显下调耐药基因*MDR1*、*MRP*及抗凋亡基因白血病-2(B cell lymphoma/leukemia-2, *Bcl-2*), 从而有效逆转胃癌细胞多药耐药性.

2.3.2 ZNRD1: 转录相关锌带蛋白基因(zinc ribbon domain-containing 1 protein, *ZNRD1*)是2000年Fan等[33]从6p2I.3 MHC Ⅰ区克隆出的一个新的锌带基因, 近年研究证实, *ZNRD1*基因不仅参与调控细胞周期、细胞凋亡等多种细胞生物学进程, 更与肿瘤发生发展及多药耐药密切相关[34].

Shi等[35]将ZNRD1过表达真核质粒载体转染人胃癌细胞株SGC-7901, 发现ZNRD1过表达可显著上调P-gp蛋白的表达, 并认为ZNRD1过表达可能是促使胃癌产生多药耐药性的原因之一. 为进一步明确ZNRD1与胃癌多药耐药间的关系, Hong等[36]成功构建ZNRD1 siRNA真核质粒载体并转染人胃癌耐药细胞株SGC-7901/VCR, 结果发现, ZNRD1沉默可显著提高SGC-7901/VCR对化疗药物长春新碱、阿霉素及依托泊苷的化疗敏感性.

2.4 RNAi在凋亡相关基因中的应用 肿瘤细胞对化疗药物的凋亡抵抗是MDR的重要机制之一, 通过调控凋亡相关基因的表达可直接影响肿瘤细胞对化疗药物的敏感性[37]. 檀碧波等[38]应用免疫组织化学技术对63例胃癌标本中Survivin、Bcl-2的蛋白表达水平进行了检测, 并以MTT法检测其体外化疗药物敏感性, 研究发现, 凋亡相关基因*Survivin*及*Bcl-2*强表达时, 多种化疗药物对胃癌细胞的抑制率均显著降低, 提示*Survivin*、*Bcl-2*表达水平与胃癌化疗敏感性密切相关. Survivin作为凋亡抑制蛋白(inhibitor of apoptosis protein, IAP)家族成员之一, 被认为是迄今为止发现的最强的凋亡抑制因子[39]. 方雷等[40]最新研究表明, Survivin特异性siRNA可明显抑制胃癌细胞MGC-803中Survivin的表达, 抑制细胞增殖, 并显著提高MGC-803细胞对化疗药物塞来昔布的敏感性. Shen等[41]则进一步证实, 转染针对Survivin设计的shRNA后可有效抑制Survivin在胃癌细胞SGC-7901中的表达, 且无论是在体外还是体内环境下, Survivin沉默均可显著提高胃癌细胞SGC-7901对化疗药物DDP及5-FU的敏感性. B细胞淋巴瘤/Bcl-2家族是目前已知的细胞凋亡中最重要的调控因子. Bcl-2家族具体分为促凋亡亚家族和抗凋亡亚家族两大类, Bcl-2和Mcl-1均为抗凋亡亚家族成员, 其主要作用是保持线粒体膜的完整, 抑制细胞色素C的释放, 从而促进细胞生存, 抑制细胞凋亡[42,43]. 而他们所具有的凋亡抵抗作用亦被认为是肿瘤发生和导致耐药的主要原因之一[44]. 沈方臻等[45]等成功筛选出稳定转染Bcl-2 shRNA质粒的胃癌细胞株SGC-7901, 并将其作用于不同浓度的DDP和5-FU, 结果表明, 转染后Bcl-2 mRNA的表达能够在长时间内受到抑制, 胃癌SGC-7901细胞株对化疗药物DDP及5-FU的敏感性亦显著提高. 此外, Akagi等[46]通过RNAi技术以腺病毒介导*Mcl-1*基因沉默, 发现Mcl-1表达抑制后可明显促进化疗药物诱导的线粒体细胞色素C的释放, 并激活Caspase凋亡信号通路, 诱导细胞凋亡, 从而有效提高胃癌细胞化疗敏感性. 细胞因子诱导的凋亡抑制分子1(cytokine-induced apoptosis inhibitor 1, CIAPIN1)是2004年Shibayama等[47]通过克隆表达的方法鉴定的凋亡抑制分子, 他们还证实, CIAPIN1是独立于凋亡调节分子Bcl-2家族及Caspase家族之外的*ras*信号转导通路的一个新的调节分子. 近年研究发现, CIAPIN1与多种恶性肿瘤的发生发展及多药耐药密切相关, 认为CIAPIN1可作为未来抗癌治疗的潜在新靶点[48]. Hao等[49]应用cDNA转染技术和RNA干扰技术分别介导胃癌细胞*CIAPIN1*基因过表达和沉默, 发现CIAPIN1过表达可诱导胃癌细胞SGC-7901产生多药耐药性, 而CIAPIN1沉默则可有效提高胃癌细胞SGC-7901及胃癌耐药细胞SGC-7901/ADR对多种化疗药物的敏感性, 明显诱导凋亡, 且CIAPIN1沉默后, MDR1及MRP的表达水平均显著下调. Li等[50]应用RNA干扰技术, 将CIAPIN1 siRNA转染人胃癌耐药细胞株SGC-7901/VCR, 发现转染组CIAPIN1表达水平显著降低, MTT法分别检测3组对多种化疗药物敏感性, 结果显示, 抑制CIAPIN1表达可有效提高胃癌耐药细胞SGC-7901/VCR对VCR、ADR及VP-16的化疗敏感性.

3 结论

RNAi作为一项沉默特异基因序列的新兴技术, 因其具有高效、快速、高度特异性、作用区域广泛、操作简易等诸多优点, 近年来已逐渐替代反义核酸技术及基因剔除技术在基因功能研究领域的主导地位. 在沉默效果方面, RNAi所产生的沉默效应已远远超过传统的反义核酸技术, 而在作用范围方面, siRNA拥有广泛的作用区域, 可作用于mRNA的任何部位, 而不是像miRNA主要局限于靶基因3'-UTR区. 值得注意的是, RNAi的序列是需要针对目的基因来特殊设计的, 之后仍需根据实验目的选择构建不同的载体. 目前实现RNAi的载体工具和方法主要有: 化学合成、质粒载体、慢病毒载体及腺病毒载体等4大类. 而在肿瘤多药耐药研究领域, RNAi更被认为是逆转肿瘤多药耐药性最有效的方法之一, 显示出其广阔的应用前景. 尽管目前研究距离临床应用仍有较大差距, 尚有很多问题亟待解决, 但可以肯定的是, 随着RNAi研究的不断深入与完善, 胃癌多药耐药研究必将翻开崭新的一页.

■创新盘点

随着国内外学者对胃癌多药耐药性问题研究的不断深入, RNAi已逐渐应用于胃癌多药耐药的基因治疗, 本文搜集了大量关于RNAi在胃癌多药耐药研究中的最新进展, 并将应用范畴划分为4个板块分别进行阐述, 从而为未来胃癌多药耐药相关研究奠定可靠的理论基础.

■应用要点

RNA干扰技术能特异、有效地阻断靶基因的表达，被认为是逆转肿瘤多药耐药性最有效的方法之一. 尽管目前研究距离临床应用仍有较大差距，尚有很多问题亟待解决，但可以肯定的是，随着RNAi研究的不断深入与完善，胃癌多药耐药研究必将翻开崭新的一页.

4 参考文献

1 Jemal A, Center MM, DeSantis C, Ward EM. Global patterns of cancer incidence and mortality rates and trends. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010; 19: 1893-1907 [PMID: 20647400 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-10-0437]

2 Zhang D, Fan D. New insights into the mechanisms of gastric cancer multidrug resistance and future perspectives. *Future Oncol* 2010; 6: 527-537 [PMID: 20373867 DOI: 10.2217/fon.10.21]

3 Davidson BL, McCray PB. Current prospects for RNA interference-based therapies. *Nat Rev Genet* 2011; 12: 329-340 [PMID: 21499294 DOI: 10.1038/nrg2968]

4 Pecot CV, Calin GA, Coleman RL, Lopez-Berestein G, Sood AK. RNA interference in the clinic: challenges and future directions. *Nat Rev Cancer* 2011; 11: 59-67 [PMID: 21160526 DOI: 10.1038/nrc2966]

5 Lage H. Therapeutic potential of RNA interference in drug-resistant cancers. *Future Oncol* 2009; 5: 169-185 [PMID: 19284376 DOI: 10.2217/14796694.5.2.169]

6 Tijsterman M, Plasterk RH. Dicers at RISC; the mechanism of RNAi. *Cell* 2004; 117: 1-3 [PMID: 15066275]

7 Mello CC, Conte D. Revealing the world of RNA interference. *Nature* 2004; 431: 338-342 [PMID: 15372040 DOI: 10.1038/nature02872]

8 Lage H. An overview of cancer multidrug resistance: a still unsolved problem. *Cell Mol Life Sci* 2008; 65: 3145-3167 [PMID: 18581055 DOI: 10.1007/s00018-008-8111-5]

9 Türk D, Szakács G. Relevance of multidrug resistance in the age of targeted therapy. *Curr Opin Drug Discov Devel* 2009; 12: 246-252 [PMID: 19333870]

10 Zhang D, Fan D. Multidrug resistance in gastric cancer: recent research advances and ongoing therapeutic challenges. *Expert Rev Anticancer Ther* 2007; 7: 1369-1378 [PMID: 17944563 DOI: 10.1586/14737140.7.10.1369]

11 Kimura Y, Morita SY, Matsuo M, Ueda K. Mechanism of multidrug recognition by MDR1/ABCB1. *Cancer Sci* 2007; 98: 1303-1310 [PMID: 17608770 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2007.00538.x]

12 Li Y, Yuan H, Yang K, Xu W, Tang W, Li X. The structure and functions of P-glycoprotein. *Curr Med Chem* 2010; 17: 786-800 [PMID: 20088754]

13 Lage H. MDR1/P-glycoprotein (ABCB1) as target for RNA interference-mediated reversal of multidrug resistance. *Curr Drug Targets* 2006; 7: 813-821 [PMID: 16842213]

14 Nieth C, Priebsch A, Stege A, Lage H. Modulation of the classical multidrug resistance (MDR) phenotype by RNA interference (RNAi). *FEBS Lett* 2003; 545: 144-150 [PMID: 12804765]

15 Stege A, Priebsch A, Nieth C, Lage H. Stable and complete overcoming of MDR1/P-glycoprotein-mediated multidrug resistance in human gastric carcinoma cells by RNA interference. *Cancer Gene Ther* 2004; 11: 699-706 [PMID: 15375376 DOI: 10.1038/sj.cgt.7700751]

16 Pérez-Tomás R. Multidrug resistance: retrospect and prospects in anti-cancer drug treatment. *Curr Med Chem* 2006; 13: 1859-1876 [PMID: 16842198]

17 Tomonaga M, Oka M, Narasaki F, Fukuda M, Nakano R, Takatani H, Ikeda K, Terashi K, Matsuo I, Soda H, Cowan KH, Kohno S. The multidrug resistance-associated protein gene confers drug resistance in human gastric and colon cancers. *Jpn J Cancer Res* 1996; 87: 1263-1270 [PMID: 9045962]

18 Endo K, Maehara Y, Kusumoto T, Ichiyoshi Y, Kuwano M, Sugimachi K. Expression of multidrug-resistance-associated protein (MRP) and chemosensitivity in human gastric cancer. *Int J Cancer* 1996; 68: 372-377 [PMID: 8903480]

19 Russel FG, Koenderink JB, Masereeuw R. Multidrug resistance protein 4 (MRP4/ABCC4): a versatile efflux transporter for drugs and signalling molecules. *Trends Pharmacol Sci* 2008; 29: 200-207 [PMID: 18353444 DOI: 10.1016/j.tips.2008.01.006]

20 Zhang YH, Wu Q, Xiao XY, Li DW, Wang XP. Silencing MRP4 by small interfering RNA reverses acquired DDP resistance of gastric cancer cell. *Cancer Lett* 2010; 291: 76-82 [PMID: 19883972 DOI: 10.1016/j.canlet.2009.10.003]

21 Toker A, Yoeli-Lerner M. Akt signaling and cancer: surviving but not moving on. *Cancer Res* 2006; 66: 3963-3966 [PMID: 16618711 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-0743]

22 Almhanna K, Strosberg J, Malafa M. Targeting AKT protein kinase in gastric cancer. *Anticancer Res* 2011; 31: 4387-4392 [PMID: 22199303]

23 Han Z, Hong L, Wu K, Han S, Shen H, Liu C, Han Y, Liu Z, Han Y, Fan D. Reversal of multidrug resistance of gastric cancer cells by downregulation of Akt1 with Akt1 siRNA. *J Exp Clin Cancer Res* 2006; 25: 601-606 [PMID: 17310852]

24 Zhou W, Fu XQ, Liu J, Yu HG. RNAi knockdown of the Akt1 gene increases the chemosensitivity of gastric cancer cells to cisplatin both in vitro and in vivo. *Regul Pept* 2012; 176: 13-21 [PMID: 22387880 DOI: 10.1016/j.regpep.2012.02.003]

25 Tew KD, Manevich Y, Grek C, Xiong Y, Uys J, Townsend DM. The role of glutathione S-transferase P in signaling pathways and S-glutathionylation in cancer. *Free Radic Biol Med* 2011; 51: 299-313 [PMID: 21558000 DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.04.013]

26 Morgan AS, Ciaccio PJ, Tew KD, Kauvar LM. Isozyme-specific glutathione S-transferase inhibitors potentiate drug sensitivity in cultured human tumor cell lines. *Cancer Chemother Pharmacol* 1996; 37: 363-370 [PMID: 8548883]

27 Townsend DM, Tew KD. The role of glutathione-S-transferase in anti-cancer drug resistance. *Oncogene* 2003; 22: 7369-7375 [PMID: 14576844 DOI: 10.1038/sj.onc.1206940]

28 韩杰, 檀碧波, 赵建辉, 王安峰, 吕炳蓉, 耿玮. 消化道肿瘤转移淋巴结中P糖蛋白和谷胱甘肽S转移酶π的表达与肿瘤化疗药物敏感性的关系. 中华普通外科杂志 2009; 24: 573-576

29 Zhang Y, Qu X, Jing W, Hu X, Yang X, Hou K, Teng Y, Zhang J, Liu Y. GSTP1 determines cis-platinum cytotoxicity in gastric adenocarcinoma MGC803 cells: regulation by promoter methylation and extracellular regulated kinase signaling. *Anticancer Drugs* 2009; 20: 208-214 [PMID: 19396019 DOI: 10.1097/CAD.0b013e328322fbaa]

30 金鹏, 谢晋良, 朱向荣, 周成, 丁翔, 杨罗艳. shRNA介导GSTP1基因沉默对激素非依赖性前列腺癌细胞株DU145的影响. 中南大学学报(医学版) 2012; 37: 807-816

31 Subramaniam MM, Chan JY, Yeoh KG, Quek T, Ito K, Salto-Tellez M. Molecular pathology of RUNX3

in human carcinogenesis. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1796: 315-331 [PMID: 19682550 DOI: 10.1016/j.bbcan.2009.07.004]
32 Guo C, Ding J, Yao L, Sun L, Lin T, Song Y, Sun L, Fan D. Tumor suppressor gene Runx3 sensitizes gastric cancer cells to chemotherapeutic drugs by downregulating Bcl-2, MDR-1 and MRP-1. *Int J Cancer* 2005; 116: 155-160 [PMID: 15756676 DOI: 10.1002/ijc.20919]
33 Fan W, Wang Z, Kyzysztof F, Prange C, Lennon G. A new zinc ribbon gene (ZNRD1) is cloned from the human MHC class I region. *Genomics* 2000; 63: 139-141 [PMID: 10662553 DOI: 10.1006/geno.1999.6040]
34 Hong L, Chen Z, Zhang X, Xia L, Han Z, Lu Y, Jin H, Song J, Qiao T, Fan D. Zinc ribbon domain containing 1 protein: modulator of multidrug resistance, tumorigenesis and cell cycle. *Exp Oncol* 2006; 28: 258-262 [PMID: 17285107]
35 Shi Y, Zhang Y, Zhao Y, Hong L, Liu N, Jin X, Pan Y, Fan D. Overexpression of ZNRD1 promotes multidrug-resistant phenotype of gastric cancer cells through upregulation of P-glycoprotein. *Cancer Biol Ther* 2004; 3: 377-381 [PMID: 14726695]
36 Hong L, Ning X, Shi Y, Shen H, Zhang Y, Lan M, Liang S, Wang J, Fan D. Reversal of multidrug resistance of gastric cancer cells by down-regulation of ZNRD1 with ZNRD1 siRNA. *Br J Biomed Sci* 2004; 61: 206-210 [PMID: 15649014]
37 Baguley BC. Multiple drug resistance mechanisms in cancer. *Mol Biotechnol* 2010; 46: 308-316 [PMID: 20717753 DOI: 10.1007/s12033-010-9321-2]
38 檀碧波, 李勇, 范立侨, 赵群, 刘羽, 赵雪峰. 胃癌凋亡相关蛋白Surivivn、B淋巴细胞/白血病-2、bax表达与肿瘤细胞体外化疗敏感性的关系. 中华实验外科杂志 2012; 29: 1315-1317
39 Rödel F, Sprenger T, Kaina B, Liersch T, Rödel C, Fulda S, Hehlgans S. Survivin as a prognostic/predictive marker and molecular target in cancer therapy. *Curr Med Chem* 2012; 19: 3679-3688 [PMID: 22680927]
40 方雷, 吴海滨, 陈晓岗. Survivin基因沉默抑制胃癌MGC-803细胞增殖并增强其对塞来昔布的敏感性. 南方医科大学学报 2011; 31: 1944-1948
41 Shen X, Zheng JY, Shi H, Zhang Z, Wang WZ. Survivin knockdown enhances gastric cancer cell sensitivity to radiation and chemotherapy in vitro and in nude mice. *Am J Med Sci* 2012; 344: 52-58 [PMID: 22261621 DOI: 10.1097/MAJ.0b013e318239c4ee]
42 Hardwick JM, Youle RJ. SnapShot: BCL-2 proteins. *Cell* 2009; 138: 404, 404. e1 [PMID: 19632186 DOI: 10.1016/j.cell.2009.07.003]
43 Akgul C. Mcl-1 is a potential therapeutic target in multiple types of cancer. *Cell Mol Life Sci* 2009; 66: 1326-1336 [PMID: 19099185 DOI: 10.1007/s00018-008-8637-6]
44 Letai A. Pharmacological manipulation of Bcl-2 family members to control cell death. *J Clin Invest* 2005; 115: 2648-2655 [PMID: 16200198 DOI: 10.1172/JCI26250]
45 沈方臻, 朱静娟, 林明刚, 肖文静, 王宁宁. 稳定转染Bcl-2 shRNA对胃癌细胞SGC-7901化疗敏感性的影响. 中华肿瘤防治杂志 2010; 17: 1908-1911
46 Akagi H, Higuchi H, Sumimoto H, Igarashi T, Kabashima A, Mizuguchi H, Izumiya M, Sakai G, Adachi M, Funakoshi S, Nakamura S, Hamamoto Y, Kanai T, Takaishi H, Kawakami Y, Hibi T. Suppression of myeloid cell leukemia-1 (Mcl-1) enhances chemotherapy-associated apoptosis in gastric cancer cells. *Gastric Cancer* 2013; 16: 100-110 [PMID: 22527182 DOI: 10.1007/s10120-012-0153-6]
47 Shibayama H, Takai E, Matsumura I, Kouno M, Morii E, Kitamura Y, Takeda J, Kanakura Y. Identification of a cytokine-induced antiapoptotic molecule anamorsin essential for definitive hematopoiesis. *J Exp Med* 2004; 199: 581-592 [PMID: 14970183 DOI: 10.1084/jem.20031858]
48 Li X, Wu K, Fan D. CIAPIN1 as a therapeutic target in cancer. *Expert Opin Ther Targets* 2010; 14: 603-610 [PMID: 20367238 DOI: 10.1517/14728221003774127]
49 Hao Z, Li X, Qiao T, Du R, Hong L, Fan D. CIAPIN1 confers multidrug resistance by upregulating the expression of MDR-1 and MRP-1 in gastric cancer cells. *Cancer Biol Ther* 2006; 5: 261-266 [PMID: 16410721]
50 Li X, Fan R, Zou X, Hong L, Gao L, Jin H, Du R, He L, Xia L, Fan D. [Reversal of multidrug resistance of gastric cancer cells by down-regulation of CIAPIN1 with CIAPIN1 siRNA]. *Mol Biol* (Mosk) 2008; 42: 102-109 [PMID: 18389626]

编辑 田滢 电编 闫晋利

■同行评价

本文就目前RNA干扰在胃癌多药耐药研究中的相关进展做了较为详细的综述, 对理解胃癌的多药耐药及开发新型的相关治疗方法有较好的学术价值, 对于其他恶性肿瘤的多药耐药研究有一定的借鉴意义.

世界华人消化杂志 2013年4月28日; 21(12): 1102-1108
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

二甲双胍、吡格列酮对非酒精性脂肪性肝病大鼠肝脏CYP2E1表达的影响

赵东强, 张松筠, 于红艳, 马俊骥, 魏 红, 刘 红, 魏东敏, 康亚星, 周晓映

■背景资料
肥胖、高血脂、代谢综合征、糖尿病患者易并发非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD), 目前普遍认为胰岛素抵抗参与其发生发展过程. 二甲双胍和吡格列酮可从不同途径增加胰岛素敏感性, 改善胰岛素抵抗.

赵东强, 马俊骥, 河北医科大学第二医院消化内科, 河北省消化病实验室 河北省石家庄市 050000
张松筠, 康亚星, 河北医科大学第二医院内分泌科 河北省石家庄市 050000
于红艳, 魏东敏, 河北工程大学附属医院呼吸科 河北省邯郸市 056002
魏红, 河北工程大学附属医院神经内科 河北省邯郸市 056002
刘红, 河北工程大学附属医院心内科 河北省邯郸市 056002
周晓映, 河北省胸科医院心内科 河北省石家庄市 050041
赵东强, 副主任医师, 主要从事脂肪肝、消化疾病的内镜诊治及介入治疗的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81200311
河北省科技计划基金资助项目, No. 08276101D_12
作者贡献分布: 此课题由赵东强、张松筠及于红艳共同设计; 研究过程由赵东强、张松筠、于红艳、马俊骥、魏红、刘红、魏东敏、康亚星及周晓映共同操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由张松筠与于红艳提供; 数据分析由赵东强与张松筠完成; 本论文写作由张松筠、于红艳、魏红、刘红、魏东敏、康亚星、赵东强及周晓映共同完成.
通讯作者: 张松筠, 教授, 主任医师, 050000, 河北省石家庄市新华区和平西路215号, 河北医科大学第二医院内分泌科.
zhangsongyun@163.com
电话: 0311-66002831
收稿日期: 2013-01-23 修回日期: 2013-03-06
接受日期: 2013-04-07 在线出版日期: 2013-04-28

Metformin and pioglitazone reduce CYP2E1 expression in the liver of rats with nonalcoholic fatty liver disease

Dong-Qiang Zhao, Song-Yun Zhang, Hong-Yan Yu, Jun-Ji Ma, Hong Wei, Hong Liu, Dong-Min Wei, Ya-Xing Kang, Xiao-Ying Zhou

Dong-Qiang Zhao, Jun-Ji Ma, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University; Hebei Key Laboratory of Gastroenterology; Hebei Institute of Gastroenterology, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China
Song-Yun Zhang, Ya-Xing Kang, Department of Endocrinology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China
Hong-Yan Yu, Dong-Min Wei, Department of Respiratory Medicine, the Affiliated Hospital of Hebei University of Engineering, Handan 056002, Hebei Province, China
Hong Wei, Department of Neurology, the Affiliated Hospital of Hebei University of Engineering, Handan 056002, Hebei Province, China
Hong Liu, Department of Cardiology, the Affiliated Hospital of Hebei University of Engineering, Handan 056002, Hebei Province, China
Xiao-Ying Zhou, Department of Cardiology, Hebei Chest Hospital, Shijiazhuang 050041, Hebei Province, China
Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 81200311; and the Science and Technology Project of Hebei Province, No. 08276101D_12
Correspondence to: Song-Yun Zhang, Professor, Chief Physician, Department of Endocrinology, the Second Hospital of Hebei Medical University, 215 Heping West Road, Xinhua District, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China. zhangsongyun@163.com
Received: 2013-01-23 Revised: 2013-03-06
Accepted: 2013-04-07 Published online: 2013-04-28

Abstract

AIM: To observe the preventive effects of metformin and pioglitazone on nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and their influence on CYP2E1 expression in the liver.

METHODS: SD rats were randomly divided into four groups: normal control group (fed a normal diet), NAFLD group (fed a fat-rich diet), metformin group [fed a fat-rich diet and intragastrically given metformin 500 mg/(kg·d)], pioglitazone group [fed a fat-rich diet and intragastrically given pioglitazone 15 mg/(kg·d)]. The rats were killed at the end of 12 wk. The contents of alanine transferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), bioactive alkaline phosphatase (ALP), total cholesterol (TC), total glyceride (TG), and floating free acid (FFA) were determined. Fasting blood sugar (FBG) level and insulin (FINS) level were measured to calculate the insulin resistance index (HOMA-IR). HE staining and Masson staining were carried out to observe the pathological changes in the liver. The expression levels of CYP2E1 mRNA and protein in the liver were determined by RT-PCR and immunohistochemistry, respectively.

RESULTS: Compared to the NAFLD group, treatment with metformin significantly reduced the bioactivity of ALT (79.86 U/L ± 10.40 U/L *vs* 143.80 U/L ± 26.34 U/L), AST (221.30 U/L ± 34.21 U/L *vs* 358.76 U/L ± 97.20 U/L), and ALP (153.32 U/L ± 24.20 U/L *vs* 207.47 U/L ± 35.39 U/L), the contents of TC (1.70 mmol/L ± 0.34 mmol/L *vs* 2.76 mmol/L ± 0.28 mmol/L), TG (3.96 mmol/L ± 0.23 mmol/L *vs* 5.67 mmol/L ± 0.54 mmol/L), and FFA (493.19 μmol/L ± 38.89 μmol/L *vs* 654.40 μmol/L ± 71.74 μmol/L), FBG (5.47 mmol/L ±

■同行评议者
党双锁, 教授, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

0.42 mmol/L *vs* 8.05 mmol/L ± 0.48 mmol/L), FINS (20.89 mU/L ± 3.12 mU/L *vs* 27.51 mU/L ± 4.02 mU/L), and HOMA-IR (5.08 ± 1.20 *vs* 9.84 ± 2.11) (all $P < 0.05$); treatment with pioglitazone significantly reduced the bioactivity of ALT (84.73 U/L ± 9.18 U/L *vs* 143.80 U/L ± 26.34 U/L), AST (235.23 U/L ± 33.62 U/L *vs* 358.76 U/L ± 97.20 U/L), and ALP (160.02 U/L ± 25.32 U/L *vs* 207.47 U/L ± 35.39 U/L), the contents of TC (1.68 mmol/L ± 0.26 mmol/L *vs* 2.76 mmol/L ± 0.28 mmol/L), TG (3.60 mmol/L ± 0.30 mmol/L *vs* 5.67 mmol/L ± 0.54 mmol/L), and FFA (495.21 μmol/L ± 43.67 μmol/L *vs* 654.40 μmol/L ± 71.74 μmol/L), FBG (5.32 mmol/L ± 0.37 mmol/L *vs* 8.05 mmol/L ± 0.48 mmol/L), FINS (21.01 mU/L ± 2.86 mU/L *vs* 27.51 mU/L ± 4.02 mU/L), and HOMA-IR (4.97 ± 0.97 *vs* 9.84 ± 2.11) (all $P < 0.05$). Treatment with both metformin and pioglitazone ameliorated pathological changes in the liver and reduced the expression levels of CYP2E1 mRNA and protein in the liver (both $P < 0.05$). However, there were no significant differences in the above parameters between the two treatment groups (all $P > 0.05$).

CONCLUSION: Both metformin and pioglitazone can prevent the occurrence of NAFLD by reducing the expression of CYP2E1.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Metformin; Pioglitazone hydrochloride tablets; Nonalcoholic fatty liver disease; Cytochrome P4502E1

Zhao DQ, Zhang SY, Yu HY, Ma JJ, Wei H, Liu H, Wei DM, Kang YX, Zhou XY. Metformin and pioglitazone reduce CYP2E1 expression in the liver of rats with nonalcoholic fatty liver disease. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(12): 1102-1108 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1102.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1102

摘要

目的: 观察二甲双胍、吡格列酮对非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)大鼠肝脏细胞色素P4502E1(CYP2E1)的影响.

方法: SD大鼠随机分为正常对照组(普通饲料喂养)、非酒精性脂肪肝组(高脂饮食喂养)、二甲双胍干预组[高脂饮食喂养加二甲双胍500 mg/(kg • d)灌胃]、吡格列酮干预组[高脂饮食喂养加吡格列酮15 mg/(kg • d)]. 饲养12 wk末处死大鼠, 检测血清丙氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、碱性磷酸酶(bioactive alkaline phosphatase, ALP)活性、总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(total glyceride, TG)、游离脂肪酸(floating free acid, FFA)含量; 测量空腹血糖(fasting blood-sugar, FBG)及胰岛素(level and insulin, FINS), 计算胰岛素抵抗指数(insulin resistance index, HOMA-IR); 采用HE染色及Masson染色(显示胶原纤维), 观察肝脏病理形态学的改变; 采用RT-qPCR和免疫组织化学法分别检测肝脏中CYP2E1 mRNA及蛋白的表达.

结果: 与非酒精性脂肪肝组相比, 二甲双胍干预组的ALT(79.86 U/L±10.40 U/L *vs* 143.80 U/L±26.34 U/L)、AST(221.30 U/L±34.21 U/L *vs* 358.76±97.20 U/L)、ALP(153.32 U/L±24.20 U/L *vs* 207.47 U/L±35.39 U/L)、TC(1.70 mmol/L±0.34 mmol/L *vs* 2.76 mmol/L±0.28 mmol/L)、TG(3.96 mmol/L±0.23 mmol/L *vs* 5.67 mmol/L±0.54 mmol/L)、FFA(493.19 μmol/L±38.89 μmol/L *vs* 654.40 μmol/L±71.74 μmol/L)以及FBG(5.47 mmol/L±0.42 mmol/L *vs* 8.05 mmol/L±0.48 mmol/L)、FINS(20.89 mU/L±3.12 mU/L *vs* 27.51 mU/L±4.02 mU/L)、HOMA-IR(5.08±1.20 *vs* 9.84±2.11)均明显降低($P<0.05$), 吡格列酮干预组的ALT(84.73 U/L±9.18 U/L *vs* 143.80 U/L±26.34 U/L)、AST(235.23 U/L±33.62 U/L *vs* 358.76 U/L±97.20 U/L)、ALP(160.02 U/L±25.32 U/L *vs* 207.47 U/L±35.39 U/L)、TC(1.68 mmol/L±0.26 mmol/L *vs* 2.76 mmol/L±0.28 mmol/L)、TG(3.60 mmol/L±0.30 mmol/L *vs* 5.67 mmol/L±0.54 mmol/L)、FFA(495.21 μmol/L±43.67 μmol/L *vs* 654.40 μmol/L±71.74 μmol/L)以及FBG(5.32 mmol/L±0.37 mmol/L *vs* 8.05 mmol/L±0.48 mmol/L)、FINS(21.01 mU/L±2.86 mU/L *vs* 27.51 mU/L±4.02 mU/L)、HOMA-IR(4.97±0.97 *vs* 9.84±2.11)均明显降低($P<0.05$), 肝脏脂肪变性及纤维化程度均明显改善, CYP2E1 mRNA及蛋白的表达明显降低($P<0.05$), 且两干预组间差异无统计学意义($P>0.05$).

结论: 二甲双胍、吡格列酮均通过降低CYP2E1的表达, 预防NAFLD的发生.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 二甲双胍; 吡格列酮; 非酒精性脂肪性肝病; CYP2E1

核心提示: 二甲双胍、吡格列酮均可通过降低CYP2E1的表达, 预防非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease)的发生.

■研发前沿
NAFLD与代谢综合征有关, 但是其具体发病机制尚未完全明确, 因此探讨NAFLD发病机制及有效的防治措施是目前研究的热点和重点.

■相关报道
Day等提出了NAFLD发病的“二次打击学说”. 初次打击为胰岛素抵抗导致肝脏脂肪沉积, 肝细胞脂肪变性; 第二次打击为各种原因引起的氧化应激, 使肝细胞膜发生脂质过氧化损伤, 伴随CYP2E1增加, 最终导致肝细胞坏死.

赵东强, 张松筠, 于红艳, 马俊骥, 魏红, 刘红, 魏东敏, 康亚星, 周晓映. 二甲双胍、吡格列酮对非酒精性脂肪性肝病大鼠肝脏CYP2E1表达的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(12): 1102-1108 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1102.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1102

0 引言

近年来, 肥胖、高血脂、代谢综合征、糖尿病患者越来越多, 由此引发的非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)发病率日益升高, 其发病机制尚未完全明确, 但目前普遍认为胰岛素抵抗参与其发生发展过程[1-4]. 二甲双胍和吡格列酮可从不同途径增加胰岛素敏感性, 改善胰岛素抵抗. 本实验以高脂饮食建立NAFLD大鼠模型, 观察CYP2E1在肝脏中的表达及二甲双胍、吡格列酮对NAFLD的预防作用.

1 材料和方法

1.1 材料 ♂SD大鼠40只, 清洁级, 体质量180 g±10 g, 购自河北医科大学动物实验中心, 许可证号: SCXK(冀)2008-1-003. 分笼喂养, 动物房内通风良好, 室温保持在18 ℃-25 ℃, 湿度40%-60%, 光照时间12 h/d. 盐酸二甲双胍片, 500 mg/片, 上海施贵宝公司生产; 盐酸吡格列酮片, 15 mg/片, 天津武田药品有限公司生产; 血清丙氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)试剂盒: 北京柏定生物工程有限公司; 碱性磷酸酶(bioactive alkaline phosphatase, ALP)试剂盒: 北京利德曼生化技术有限公司; 血糖测定采用葡萄糖氧化酶法; 胰岛素放免试剂盒购自北京福瑞生物工程公司; 总胆固醇(total Cholesterol, TC)、甘油三酯(total glyceride, TG)、游离脂肪酸(floating free acid, FFA)试剂盒购自南京建成生物工程研究所; CYP2E1多克隆抗体及DAB显色液购自武汉博士德公司; TRIzol试剂盒购自Invitrogen公司; TaKaRa RNA LA PCRTM Kit试剂盒购自日本TaKaRa有限公司.

1.2 方法

1.2.1 动物模型建立与分组: 将大鼠随机分为: 正常对照组(NC组, n = 10), 普通饲料喂养12 wk; 非酒精性脂肪肝组(NF组, n = 10), 高脂饮食喂养12 wk, 高脂饮食配料包括: 80.5%基础饲料、2%高胆固醇、7%猪油、10%蛋黄粉及0.5%胆盐: 二甲双胍干预组(MN组, n = 10), 高脂饮食喂养同时加用二甲双胍500 mg/(kg·d)灌胃12 wk; 吡格列酮干预组(PN组, n = 10), 高脂饮食喂养同时加用吡格列酮15 mg/(kg·d)灌胃12 wk.

1.2.2 标本制备与保存: 饲养12 wk, 大鼠禁食12 h, 麻醉后下腔静脉取血, 分离血清, -70 ℃保存, 以检测血清学指标. 迅速取出肝脏, 称质量, 切取数块右叶肝组织保存于液氮内, 以提取蛋白及总RNA, 并取右叶肝组织固定于10%甲醛内, 用于病理学检查.

1.2.3 观察指标与检测方法: ALT、AST、ALP、TG、TC、FFA、空腹血糖均严格按照试剂说明书由自动生化仪进行测定, 胰岛素采用放射免疫法测定, 计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR = FBG×FINS/22.5)[5].

1.2.4 组织病理学观察: 将取出的肝组织浸泡在10%甲醛溶液内固定, 石蜡包埋, 切片, 行HE染色及Masson染色观察肝细胞脂肪变性程度、炎性活动度及肝纤维化的程度, 相关标准参照Musso等[6]提出的肝细胞脂肪变分级方法及2000年全国肝病会议通过的肝纤维化分期方法[7].

1.2.5 CYP2E1免疫组织化学的检测: 按照SP试剂盒操作说明进行, 石蜡切片常规脱蜡、水化, 置1 mmol/L Tris/EDTA缓冲液中进行微波抗原修复, 凉至室温; 30 g/L H_2O_2孵育10 min以消除内源性过氧化物酶活性, 滴加100 mL/L正常兔血清封闭非特异性抗原, 倾去血清, 滴加1∶100稀释的CYP2E1一抗, 4 ℃放置过夜, PBS冲洗3 min×5 min, 滴加生物素化二抗, 37 ℃孵育10 min, PBS冲洗3 min×5 min; 滴加辣根过氧化物酶标记的卵白素工作液, 37 ℃孵育15 min; DAB显色, 苏木素复染, 脱水中性树脂封片.

1.2.6 CYP2E1 mRNA的测定: 提取肝组织标本总RNA, 依照试剂盒提供的说明书进行逆转录反应, PCR引物序列: 5'-CTCCTCGTCATATC-CATCTG-3', 5'-GCAGCCAATCAGAAATG-3'. PCR反应条件: 94 ℃预变性5 min, 94 ℃变性30 s, 56 ℃退火1 min, 72 ℃延伸1 min, 25个循环, 最后72 ℃延伸8 min. 产物分析: PCR扩增产物10 μL加入1%琼脂凝胶中电泳, 紫外透视分光仪下观察结果并摄片, 用β-actin校正半定量, 凝胶图像分析系统测定各电泳带灰度值.

统计学处理 采用SPSS13.0进行数据统计, 统计结果用mean±SD表示, 计量资料采用单因素方差分析, 计数资料采用秩和检验, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 各组FBG、FINS及HOMA-IR的比较 与正

■创新盘点
本文通过大鼠模型研究二甲双胍、吡格列酮对非酒精性脂肪肝的预防作用, 发现其作用机制可能与调节CYP2E1的水平有关.

表 1 各组大鼠空腹血糖、胰岛素及胰岛素抵抗指数的比较 (mean ± SD)

分组	空腹血糖(mmol/L)	胰岛素(mU/L)	胰岛素抵抗指数
正常对照组	6.62 ± 0.87	21.13 ± 3.98	6.22 ± 1.84
非酒精性脂肪肝组	8.05 ± 0.48	27.51 ± 4.02[a]	9.84 ± 2.11[a]
二甲双胍干预组	5.47 ± 0.42[c]	20.89 ± 3.12[c]	5.08 ± 1.20[c]
吡格列酮干预组	5.32 ± 0.37[c]	21.01 ± 2.86[c]	4.97 ± 0.97[c]

[a]*P*<0.05 *vs* 正常对照组; [c]*P*<0.05 *vs* 非酒精性脂肪肝组.

表 2 各组大鼠丙氨酸氨基转移酶、天冬氨酸氨基转移酶、碱性磷酸酶的变化 (mean ± SD, U/L)

分组	丙氨酸氨基转移酶	天冬氨酸氨基转移酶	碱性磷酸酶
正常对照组	52.56 ± 6.78	196.34 ± 12.97	144.54 ± 23.48
非酒精性脂肪肝组	143.80 ± 26.34[a]	358.76 ± 97.20[a]	207.47 ± 35.39[a]
二甲双胍干预组	79.86 ± 10.40[c]	221.30 ± 34.21[c]	153.32 ± 24.20[c]
吡格列酮干预组	84.73 ± 9.18[c]	235.23 ± 33.62[c]	160.02 ± 25.32[c]

[a]*P*<0.05 *vs* 正常对照组; [c]*P*<0.05 *vs* 非酒精性脂肪肝组.

表 3 各组大鼠甘油三酯、总胆固醇、游离脂肪酸的变化 (mean ± SD)

分组	甘油三酯(mmol/L)	总胆固醇(mmol/L)	游离脂肪酸(μmol/L)
正常对照组	2.70 ± 0.32	0.98 ± 0.25	408.63 ± 31.80
非酒精性脂肪肝组	5.67 ± 0.54[a]	2.76 ± 0.28[a]	654.40 ± 71.74[a]
二甲双胍干预组	3.96 ± 0.23[c]	1.70 ± 0.34[c]	493.19 ± 38.89[c]
吡格列酮干预组	3.60 ± 0.30[c]	1.68 ± 0.26[c]	495.21 ± 43.67[c]

[a]*P*<0.05 *vs* 正常对照组; [c]*P*<0.05 *vs* 非酒精性脂肪肝组.

常对照组相比, 非酒精性脂肪肝组中FINS、HOMA-IR均有明显的上升趋势(*P*<0.05); 与非酒精性脂肪肝组相比, 二甲双胍干预组、吡格列酮干预组FINS、HOMA-IR均有明显的下降(*P*<0.05), 但后两组相比差异无统计学意义(表1).

2.2 各组大鼠ALT、AST、ALP及TG、TC、FFA的变化 与正常对照组相比, 非酒精性脂肪肝组ALT、AST、ALP 活性及TG、TC、FFA含量均有明显升高(*P*<0.05); 与非酒精性脂肪肝组相比, 二甲双胍干预组、吡格列酮干预组ALT、AST、ALP活性及TG、TC、FFA含量均有明显下降(*P*<0.05), 而后两组相比差异无统计学意义(表2, 3).

2.3 肝组织病理HE染色 正常对照组HE染色可见正常肝小叶结构, 未见肝细胞脂肪变性或坏死及炎性细胞浸润; 非酒精性脂肪肝组HE染色后可见肝小叶结构紊乱或消失, 肝细胞肿大, 出现中重度脂肪变性; 二甲双胍干预组、吡格列酮干预组HE染色介于正常对照组与非酒精性脂肪肝组(图1).

2.4 肝组织病理Masson染色 正常对照组肝组织Masson染色可见正常的肝小叶结构, 窦周隙可见少量增生的胶原纤维; 非酒精性脂肪肝病组Masson染色可见肝小叶结构紊乱或消失、肝细胞坏死和纤维组织增生, 窦周隙纤维增生明显, 汇管区、肝小叶间、肝小叶中心可见粗条索状纤维组织. 二甲双胍干预组、吡格列酮干预组亦可见纤维组织增生, 程度较非酒精性脂肪肝病组明显减轻, 两干预组间无明显差异(图2).

2.5 各组CYP2E1 mRNA及蛋白表达的比较 RT-PCR测定结果显示: 与正常对照组相比, 非酒精性脂肪肝组CYP2E1 mRNA表达量均有明显增多(*P*<0.05). 与非酒精性脂肪肝组相比, 二甲双胍干预组、吡格列酮干预组CYP2E1 mRNA表达量均有明显减少(*P*<0.05), 而后两组相比差异

■应用要点
认真分析临床非酒精性脂肪肝患者的实际情况, 可以建议其服用二甲双胍或吡格列酮防治脂肪肝病情的进展.

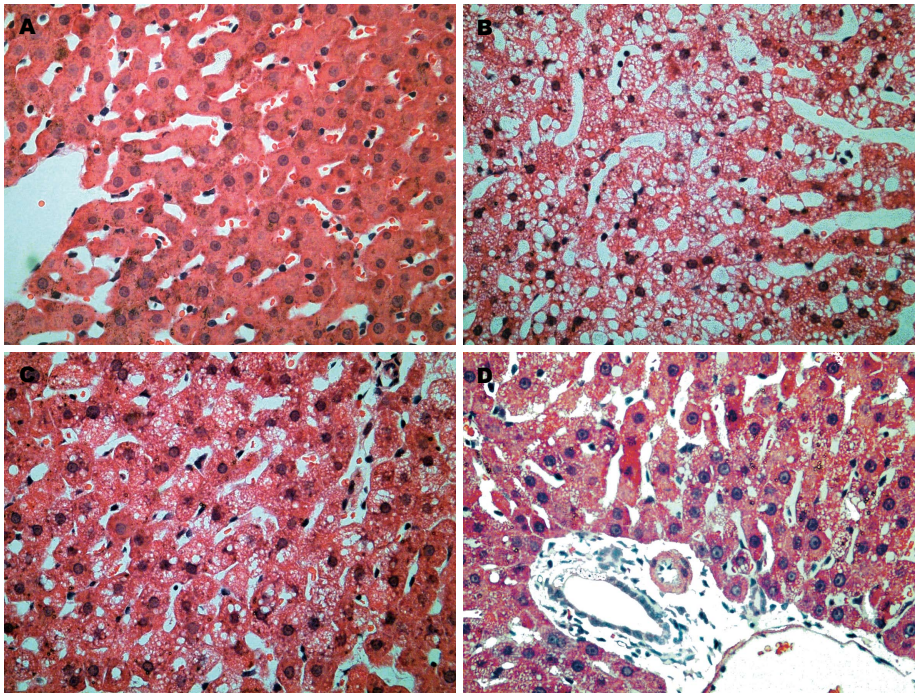


图 1 各组大鼠肝脏的HE染色(×400). A: 正常对照组; B: 非酒精性脂肪肝组; C: 二甲双胍干预组; D: 吡格列酮干预组.

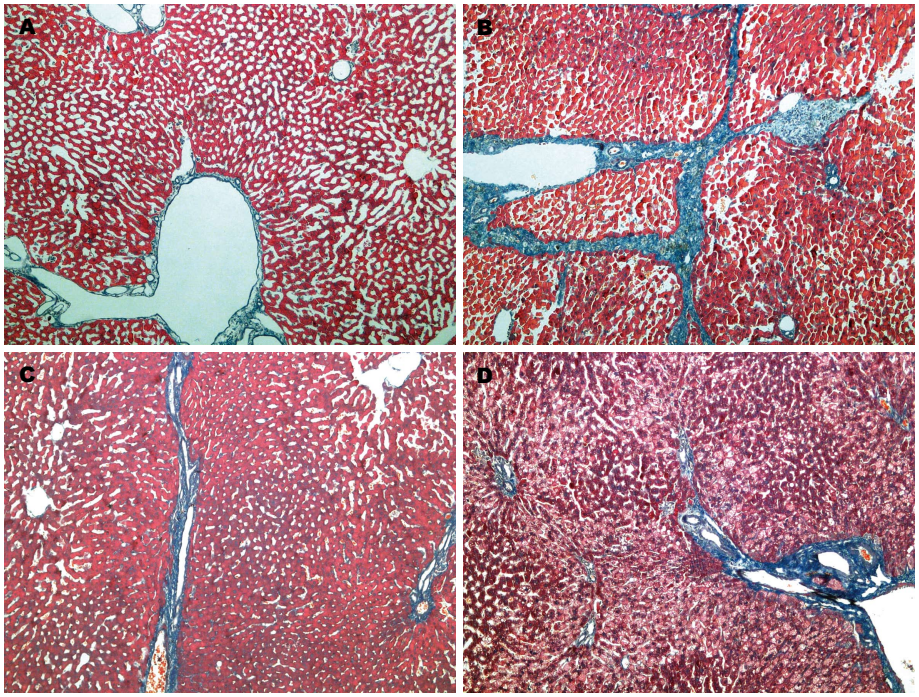


图 2 各组大鼠肝脏的Masson染色(×400). A: 正常对照组; B: 非酒精性脂肪肝组; C: 二甲双胍干预组; D: 吡格列酮干预组.

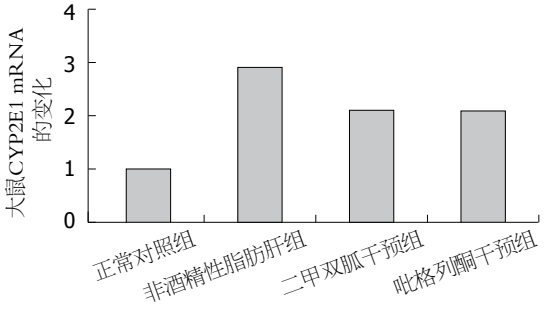


图 3 各组大鼠CYP2E1 mRNA的变化.

无统计学意义(P>0.05, 图3, 4).

免疫组织化学染色法示: 正常对照组CYP2E1阳性细胞极少, 阳性率为0; 与正常对照组相比, 非酒精性脂肪肝组CYP2E1阳性细胞显著增加, 棕黄色颗粒主要分布于中央静脉周围, 与脂肪变一致(P<0.05). 与非酒精性脂肪肝组相比, 二甲双胍干预组、吡格列酮干预组CYP2E1阳性细胞明显减少(P<0.05), 后两组相比差异无统计学意义.

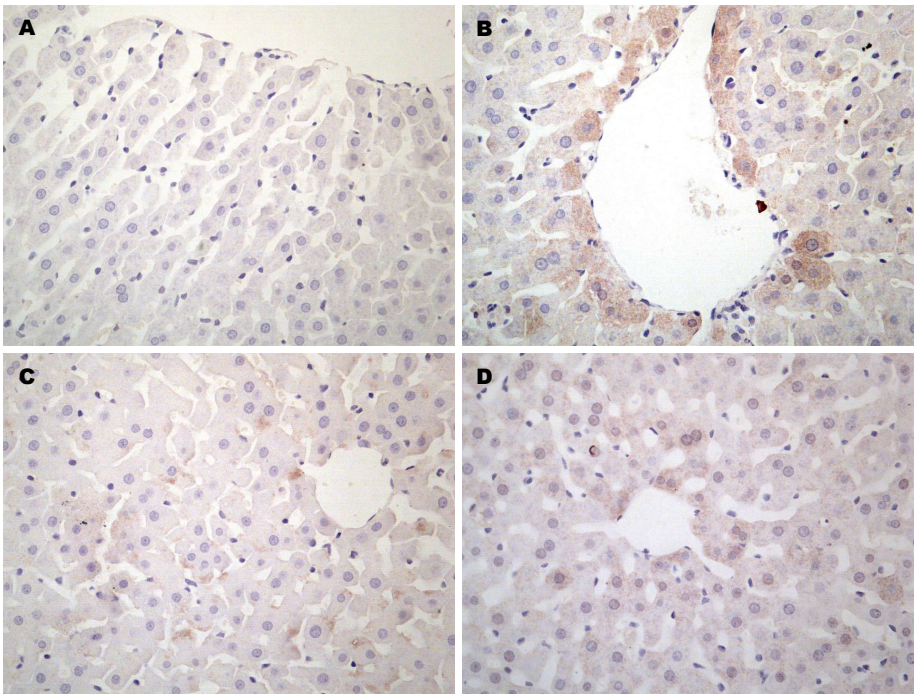


图 4 各组大鼠肝脏CYP2E1阳性细胞变化(×400). A: 正常对照组; B: 非酒精性脂肪肝组; C: 二甲双胍干预组; D: 吡格列酮干预组.

■同行评价

本文方案设计可行, 方法得当, 结果分析合理, 为临床应用二甲双胍、吡格列酮干预NAFLD的进展提供了实验依据.

3 讨论

目前, NAFLD发病机制尚未完全明确, 但人们普遍接受Nagata等[8]提出的“二次打击学说”. 初次打击为胰岛素抵抗导致的肝脏脂肪沉积, 肝细胞脂肪变性; 第二次打击为各种原因引起的氧化应激, 使肝细胞膜发生脂质过氧化损伤, 最终导致肝细胞坏死. CYP2E1是细胞色素P450的2E1亚型, 为微粒体混合功能氧化酶系中最重要的氧化酶, 参与肝脏的代谢与解毒, 高表达后可使肝细胞中氧化反应增强, 造成肝细胞膜脂质过氧化, 降低抗氧化系统的保护作用, 损伤肝细胞[9,10]. 研究发现NAFLD肝细胞中CYP2E1表达增多, 参与NAFLD的形成[11,12]. 机体处于胰岛素抵抗状态时, 胰岛素将会失去对CYP2E1的抑制作用, 使其含量增多, 活性增强, 导致氧化应激产物增多, 激活肝星状细胞, 出现肝纤维化[13,14]. 实验亦证实[15]: CYP2E1过度表达可导致氧化应激增强, 减少糖原储备, 促进葡萄糖的合成, 脂肪蓄积增多, 减少肝脏中胰岛素信号, 增强胰岛素抵抗, 加重肝脏损伤. 故在非酒精性脂肪性肝病中胰岛素抵抗和CYP2E1是相互独立又相互作用的两个因素.

二甲双胍及吡格列酮可分别通过不同的作用机制改善胰岛素敏感性, 减轻胰岛素抵抗. 本实验中, 我们以高脂饮食饲养大鼠, 同时应用二甲双胍及吡格列酮进行干预, 实验结果显示: 二甲双胍干预组及吡格列酮干预组大鼠肝脏病理改变较非酒精性脂肪肝组均减轻, 血清AST、ALT、ALP、TG、TC、FFA及胰岛素抵抗指数均低于非酒精性脂肪肝组. 非酒精性脂肪肝组CYP2E1的表达水平明显高于正常对照组, 而干预组CYP2E1表达水平均有明显的下降趋势, 但干预组间没有明显的区别, 提示二甲双胍、吡格列酮对非酒精性脂肪肝的预防作用相当, 其作用机制可能与调节CYP2E1的水平有关.

4 参考文献

1 Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 34: 274-285 [PMID: 21623852 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04724.x]

2 Bellentani S, Scaglioni F, Marino M, Bedogni G. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease. *Dig Dis* 2010; 28: 155-161 [PMID: 20460905 DOI: 10.1159/000282080]

3 中华医学会内分泌学分会肝病与代谢学组(筹). 中华医学会内分泌学分会“非酒精性脂肪性肝病与相关代谢紊乱诊疗共识”. 中华内分泌代谢杂志 2010; 26: 531-534

4 Bugianesi E, Moscatiello S, Ciaravella MF, Marchesini G. Insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. *Curr Pharm Des* 2010; 16: 1941-1951 [PMID: 20370677 DOI: 10.2174/138161210791208875]

5 Negami M, Takahashi E, Otsuka H, Moriyama K. Prediction of homeostasis model assessment of insulin resistance in Japanese subjects. *Tokai J Exp Clin Med* 2012; 37: 102-106 [PMID: 23238901]

6 Musso G, Gambino R, Cassader M, Pagano G. A meta-analysis of randomized trials for the treatment of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2010; 52: 79-104 [PMID: 20578268 DOI: 10.1002/hep.23623]

7 中华医学会, 传染病与寄生虫病学分会. 病毒性肝炎

防治方案. 中华内科杂志 2001; 40: 62-68
8 Nagata K, Suzuki H, Sakaguchi S. Common pathogenic mechanism in development progression of liver injury caused by non-alcoholic or alcoholic steatohepatitis. *J Toxicol Sci* 2007; 32: 453-468 [PMID: 18198478 DOI: 10.2131/jts.32.453]
9 Aroor AR, Roy LJ, Restrepo RJ, Mooney BP, Shukla SD. A proteomic analysis of liver after ethanol binge in chronically ethanol treated rats. *Proteome Sci* 2012; 10: 29 [PMID: 22545783 DOI: 10.1186/1477-5956-10-29]
10 Sakaguchi S, Takahashi S, Sasaki T, Kumagai T, Nagata K. Progression of alcoholic and non-alcoholic steatohepatitis: common metabolic aspects of innate immune system and oxidative stress. *Drug Metab Pharmacokinet* 2011; 26: 30-46 [PMID: 21150132 DOI: 10.2133/dmpk.DMPK-10-RV-087]
11 Orellana M, Rodrigo R, Varela N, Araya J, Poniachik J, Csendes A, Smok G, Videla LA. Relationship between in vivo chlorzoxazone hydroxylation, hepatic cytochrome P450 2E1 content and liver injury in obese non-alcoholic fatty liver disease patients. *Hepatol Res* 2006; 34: 57-63 [PMID: 16321567 DOI: 10.1016/j.hepres.2005.10.001]
12 Videla LA. Oxidative stress signaling underlying liver disease and hepatoprotective mechanisms. *World J Hepatol* 2009; 1: 72-78 [PMID: 21160968 DOI: 10.4254/wjh.v1.i1.72]
13 Chiang DJ, Pritchard MT, Nagy LE. Obesity, diabetes mellitus, and liver fibrosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2011; 300: G697-G702 [PMID: 21350183 DOI: 10.1152/ajpgi.00426.2010]
14 Bosserhoff A, Hellerbrand C. Obesity and fatty liver are 'grease' for the machinery of hepatic fibrosis. *Dig Dis* 2011; 29: 377-383 [PMID: 21894008 DOI: 10.1159/000329800]
15 Kathirvel E, Morgan K, French SW, Morgan TR. Overexpression of liver-specific cytochrome P4502E1 impairs hepatic insulin signaling in a transgenic mouse model of nonalcoholic fatty liver disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2009; 21: 973-983 [PMID: 19307976 DOI: 10.1097/MEG.0b013e328328f461]

编辑 田滢 电编 闫晋利

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

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873

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

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2013年4月28日; 21(12): 1109-1113
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

铁螯合剂DFO对胰腺癌细胞株PANC-1增殖率的影响

赵慧贞, 庞慧芳, 赵 秋, 覃 华

赵慧贞, 庞慧芳, 赵秋, 覃华, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科 湖北省武汉市 430030
赵慧贞, 硕士, 主要从事胰腺癌相关的基础研究.
作者贡献分布: 此研究由覃华与赵秋设计; 研究过程由赵慧贞与庞慧芳完成; 数据分析由覃华与赵慧贞完成; 本论文写作由覃华与赵慧贞完成.
通讯作者: 覃华, 主治医师, 430030, 湖北省武汉市解放大道1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科. drqinhua@163.com
收稿日期: 2013-01-13 修回日期: 2013-03-06
接受日期: 2013-04-07 在线出版日期: 2013-04-28

Treatment with deferoxamine inhibits the proliferation of PANC-1 cells

Hui-Zhen Zhao, Hui-Fang Pang, Qiu Zhao, Hua Qin

Hui-Zhen Zhao, Hui-Fang Pang, Qiu Zhao, Hua Qin, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China
Correspondence to: Hua Qin, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 1095 Jiefang Avenue, Wuhan 430030, Hubei Province, China. drqinhua@163.com
Received: 2013-01-13 Revised: 2013-03-06
Accepted: 2013-04-07 Published online: 2013-04-28

Abstract

AIM: To investigate the effect of treatment with deferoxamine (DFO), an iron chelator, on cell proliferation in pancreatic cancer cell line PANC-1, and to provide an experimental basis for the possible use of DFO for the treatment of pancreatic cancer.

METHODS: Cultured PANC-1 cells were treated with DFO 200 μmol/L, gemcitabine (GEM) 10 μmol/L, or DFO 200 μmol/L + GEM 10 μmol/L for 24 h. The proliferation of PANC-1 cells was determined by MTT Assay. GEM-resistant PANC-1 cells were cultured *in vitro* and treated with DFO at 100 μmol/L or 200 μmol/L for 24 h. The proliferation of GEM-resistant PANC-1 cells was assessed by MTT assay.

RESULTS: After treatment with DFO (200 μmol/L) and GEM (10 μmol/L) for 24 h, the proliferation rates of PANC-1 cells were 94.9% and 97.3%, respectively, and the reduced rates of cell proliferation were 4.25% and 2.28%. After treatment with DFO (200 μmol/L) + GEM (10 μmol/L) for 24 h, the proliferation rate of PANC-1 cells was 91.9%, and the reduced rate of cell proliferation was 6.67%. DFO and GEM significantly inhibited the proliferation of PANC-1 cells ($P < 0.05$), and they had a synergistic effect on PANC-1 cell proliferation. After treatment with DFO (100 μmol/L and 200 μmol/L) for 24 h, the proliferation rates of GEM-resistant PANC-1 cells were 40.0% and 35.8%, and reduced rates of cell proliferation were 22.5% and 27.7%, respectively. DFO also significantly inhibited the proliferation of GEM-resistant PANC-1 cells.

CONCLUSION: Treatment with DFO can significantly inhibit the proliferation of PANC-1 cells, and DFO has a synergistic effect with GEM. DFO can also significantly inhibit the proliferation of GEM-resistant PANC-1 cells.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Iron chelator; Deferoxamine; Gemcitabine; Pancreatic cancer; Proliferation

Zhao HZ, Pang HF, Zhao Q, Qin H. Treatment with deferoxamine inhibits the proliferation of PANC-1 cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(12): 1109-1113
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1109.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1109

摘要

目的: 研究铁螯合剂去铁胺(deferoxamine, DFO)对胰腺癌PANC-1细胞增殖率的影响, 为进一步探讨DFO用于治疗胰腺癌提供实验基础.

方法: 体外培养胰腺癌PANC-1细胞, 分别以DFO 200 μmol/L、吉西他滨(gemcitabine, GEM)10 μmol/L、DFO 200 μmol/L+GEM 10 μmol/L作用于PANC-1细胞, 24 h后收获细胞用MTT试剂盒检测PANC-1细胞的增殖率; 以GEM筛选GEM耐药PANC-1细胞, 分别以DFO 100 μmol/L及200 μmol/L处理24 h后收获细胞, 用MTT试剂盒检测GEM耐药PANC-1细胞的

■背景资料
胰腺癌是一种恶性程度高、易早期转移、预后极差的消化系肿瘤, 其早期诊断十分困难, 多数患者在确诊时因已发生肿瘤局部浸润和/或远处转移而失去最佳治疗时机, 且胰腺癌对传统的放疗和化疗并不敏感, 即使采用综合治疗其5年生存率不到5%.

■同行评议者
杜奕奇, 副教授, 中国人民解放军第二军医大学长海医院

■研发前沿
铁超载可加快肿瘤细胞的生长速度，铁螯合剂铁剥夺后可抑制肺癌、肝癌细胞的生长.

增殖率.

结果: 经DFO 200 μmol/L、GEM 10 μmol/L处理24 h后, PANC-1细胞增殖率分别为94.9%和97.3%, DFO及GEM对细胞增殖的抑制率分别为4.25%和2.28%, 经DFO 200 μmol/L+GEM 10 μmol/L处理24 h后, PANC-1细胞增殖率为91.9%, 其对PANC-1细胞增殖抑制率为6.67%. DFO及GEM对PANC-1细胞增殖均有明显的抑制作用(P<0.05), 二者联用具有协同作用. GEM耐药PANC-1细胞经DFO 100 μmol/L和200 μmol/L处理24 h后其增殖率分别为40.0%和35.8%, DFO 100 μmol/L和200 μmol/L对GEM耐药PANC-1细胞增殖抑制率分别为22.5%和27.7%. DFO可明显抑制GEM耐药PANC-1细胞的增殖.

结论: 铁螯合剂DFO对胰腺癌PANC-1细胞株的增殖有明显的抑制作用, 与GEM具有协同作用; DFO对GEM耐药PANC-1细胞的增殖亦有明显的抑制作用.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 铁螯合剂; 去铁胺; 吉西他滨; 胰腺癌; 增殖

核心提示: 铁螯合剂去铁胺(deferoxamine, DFO)对胰腺癌PANC-1细胞株的增殖有明显的抑制作用, 与吉西他滨(gemcitabine, GEM)具有协同作用; DFO对GEM耐药PANC-1细胞的增殖亦有明显的抑制作用.

赵慧贞, 庞慧芳, 赵秋, 覃华. 铁螯合剂DFO对胰腺癌细胞株PANC-1增殖率的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(12): 1109-1113 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1109.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1109

0 引言

铁是机体中重要的微量元素之一, 细胞内多种酶均含有铁且其活性与铁含量相关, 机体铁代谢异常可导致多种疾病[1]. 铁参与机体氧气转运、电子传递、DNA合成以及细胞免疫应答等多种生理机能[2,3], 在细胞新陈代谢过程中起着重要的作用. 铁可调节细胞周期蛋白、凋亡相关基因的表达, 在肿瘤细胞生长和分化过程中亦起着重要的作用[4-6]. 国外研究发现铁超载可加快肿瘤细胞的生长速度, 铁螯合剂剥夺细胞内铁后可抑制肺癌、肝癌细胞的生长[7-9]. 胰腺癌是一种恶性程度高、易早期转移、预后极差的消化系肿瘤, 其早期诊断十分困难, 多数患者在确诊时因已发生肿瘤局部浸润和/或远处转移而失去最佳治疗时机, 且胰腺癌对放疗和化疗并不敏感, 即使采用综合治疗其5年生存率不到5%[10], 预后极差. 因此, 寻求新的治疗药物成为胰腺癌的研究热点, 本研究在细胞水平观察铁螯合剂去铁胺(deferoxamine, DFO)对人胰腺癌PANC-1细胞增殖的影响, 为进一步探讨DFO用于胰腺癌的临床治疗提供实验基础.

1 材料和方法

1.1 材料 PANC-1细胞由本实验室保存; 胎牛血清购自杭州四季青生物工程材料公司; RMPI培养基购自Gibco公司; DFO购自诺华公司; 盐酸吉吉西他滨(gemcitabine, GEM)购自江苏豪森药业股份有限公司; MTT试剂盒购自碧云天公司.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: PANC-1细胞用含10%胎牛血清、青霉素100 U/mL和链霉素100 U/mL的RMPI培养液, 置于37 ℃、5%CO_2培养箱中培养, 根据细胞生长状态, 观察培养基颜色更换新鲜培养基. 按Shah等[11]报道的方法筛选、培养GEM耐药PANC-1细胞.

1.2.2 MTT法检测细胞增殖: 分别收集对数期PANC-1细胞及吉西他滨筛选后的耐吉西他滨PANC-1细胞, 收集至10 mL离心管, 1 200 r/min离心5 min去除培养基, 以培养基悬浮细胞后接种于96孔板(4×10^3细胞/孔), 96孔周边孔添加无菌PBS溶液, 减少细胞培养基挥发, 待细胞贴壁, 细胞密度长至60%-80%后, 吸去培养基, 保留空白孔和对照孔, 实验孔分别加入含DFO、GEM或DFO+GEM的培养基. 本研究中PANC-1细胞分为4组: 对照组、DFO 200 μmol/L组、GEM 10 μmol/L组及DFO 200 μmol/L+GEM 10 μmol/L组; GEM耐药PANC-1细胞分为3组: 对照组、DFO 100 μmol/L及DFO 200 μmol/L组. 每个实验组设定6个复孔, 37 ℃、5%CO_2培养24 h. 按照每孔100 μL培养基加入10 μL MTT工作液, 避光微量震荡器上震荡均匀, 后置于37 ℃、5%CO_2培养箱, 2 h后于450 nm波长测吸光度.

统计学处理 用SPSS17.0统计软件进行分析, 用Graphpad prism作图. DFO、GEM及DFO+GEM等处理组与对照组之间的差异采用t检验分析, P<0.05表示有显著统计学差异.

2 结果

胰腺癌PANC-1细胞经DFO 200 μmol/L、GEM

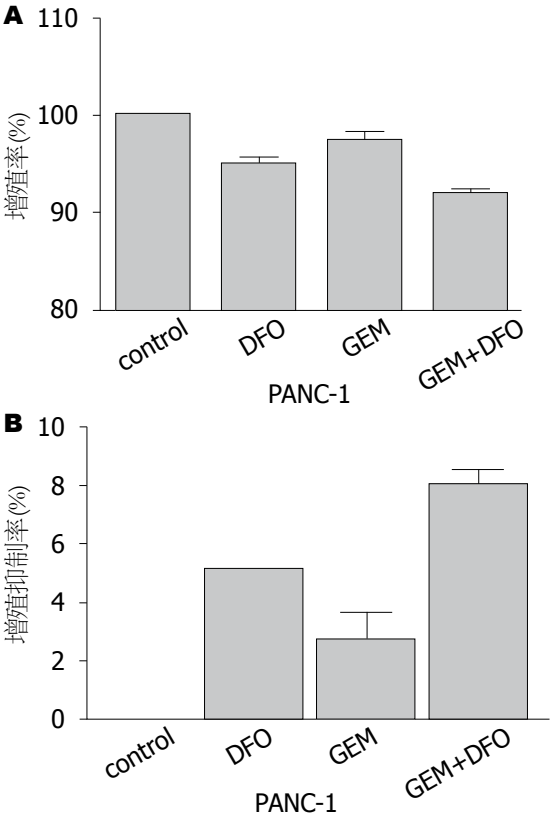


图 1 DFO、GEM及DFO+GEM对PANC-1细胞增殖率的影响. A: PANC-1细胞经DFO 200 μmol/L、GEM 10 μmol/L及DFO 200 μmol/L+GEM 10 μmol/L处理24 h; B: DFO 200 μmol/L、GEM 10 μmol/L及DFO 200 μmol/L+GEM 10 μmol/L处理对PANC-1细胞增殖的影响. DFO: 铁螯合剂去铁胺; GEM: 吉西他滨.

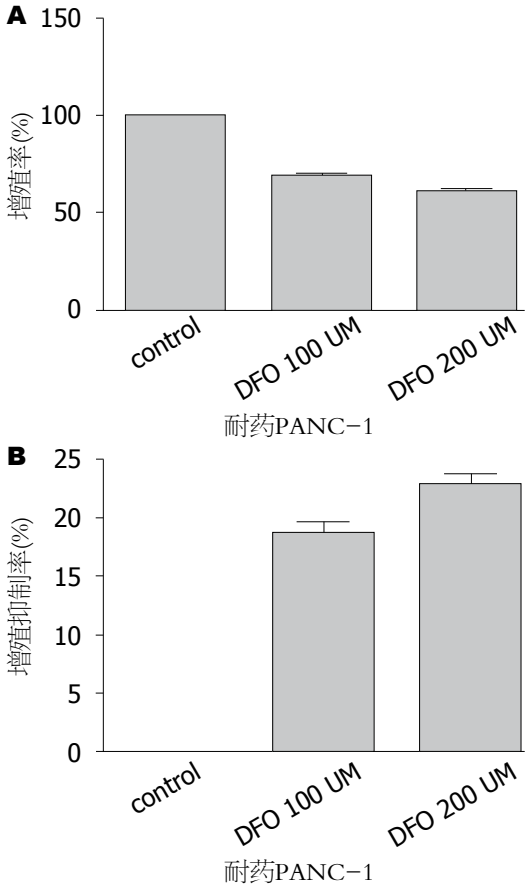


图 2 DFO对GEM耐药PANC-1细胞增殖率的影响. A: GEM耐药PANC-1细胞经DFO 100 μmol/L及200 μmol/L处理24 h; B: DFO 100 μmol/L及200 μmol/L对GEM耐药PANC-1细胞增殖的影响. DFO: 铁螯合剂去铁胺.

■创新盘点

目前铁螯合剂对胰腺癌细胞的增殖作用国内外研究不多, 此研究给胰腺癌患者带来希望.

10 μmol/L及DFO 200 μmol/L+GEM 10 μmol/L处理24 h后, 其增殖率分别为94.9%、97.3%和91.9%, 与对照组相比PANC-1细胞增殖率均明显降低(P = 0.0009, 0.0476, <0.0001). GEM 10 μmol/L与DFO 200 μmol/L组无统计学意义(P>0.05), DFO 200 μmol/L+GEM 10 μmol/L与DFO 200 μmol/L、GEM 10 μmol/L相比细胞增殖率明显下降(P = 0.0082, 0.0094). DFO 200 μmol/L、GEM 10 μmol/L及DFO 200 μmol/L+ GEM 10 μmol/L对PANC-1细胞增殖抑制率分别为4.25%、2.28%和6.67%, DFO 200 μmol/L与GEM 10 μmol/L可明显抑制PANC-1细胞的增殖, 且二者具有协同作用(图1).

吉西他滨耐药PANC-1细胞经DFO 100 μmol/L及200 μmol/L处理24 h后, 其增殖率分别为40.0%和35.8%, 与对照组相比PANC-1细胞增殖率均明显降低(P<0.0001, <0.0001); DFO 100 μmol/L与DFO 200 μmol/L相比有统计学意义(P = 0.0017)DFO可明显抑制吉西他滨耐药PANC-1细胞增殖, DFO 100 μmol/L及200 μmol/L对PANC-1细胞增殖抑制率分别为18.5%和22.68%, 其抑制作用强度与DFO剂量相关(图2).

3 讨论

去铁胺被认为是降低机体铁负荷的“金标准”, 主要用于治疗血红蛋白病及β-地中海贫血合并铁负荷过重者[9]. DFO与游离或蛋白结合的Fe^{3+}形成稳定、无毒的水溶性铁胺复合物随尿排出体外而降低机体铁负荷. DFO对转铁蛋白中的铁离子清除作用不强, 亦不能清除血红蛋白、肌球蛋白和细胞色素中的铁离子, 因而DFO对血红蛋白、肌红蛋白及细胞色素无不良影响.

本研究中胰腺癌PANC-1细胞经DFO 200 μmol/L处理24 h后, 其增殖率与对照组相比明显降低(P<0.05), 与GEM组相近, 二者联用可进一步抑制PANC-1细胞的增殖, 两者具有协同作用. 因此, 在胰腺癌综合治疗中可以将铁螯合剂作为新的选择. DFO抑制肿瘤细胞增殖的确切机制尚未明了, 其可能机制包括以下几个方面: (1)肿

■应用要点
本研究给胰腺癌患者带来希望, 也为进一步研究胰腺癌的发病机制与铁螯合剂去铁胺抗肿瘤机制提供实验基础.

瘤细胞快速增殖过程中合成DNA时需要大量的铁, DFO可通过螯合作用降低肿瘤细胞内铁水平, 从而影响肿瘤细胞DNA合成[9]; (2)核苷酸还原酶(ribonucleotide reductase, RR)是DNA合成的限速酶, RR在DNA修复中亦起着重要作用, 其活性中心包含一个Fe-O-Fe结构, DFO可降低肿瘤细胞内铁水平进而降低RR活性[12,13]抑制DNA合成; (3)DFO螯合肿瘤细胞内铁后下调细胞周期蛋白Cyclin D1、cdk2的表达致使肿瘤细胞G_1/S期停滞, 上调p53及Ndrg1水平导致肿瘤细胞生长周期停滞或诱导细胞凋亡[4,14,15]. 与此同时, 有研究发现DFO可通过上调肿瘤细胞内Ndrg1水平而减弱TGF-β诱导的上皮细胞间质转分化, 降低结肠癌HT29及DM145细胞的迁移和侵袭力[5,16]. 我们同期的研究发现胰腺癌ASPC-1细胞经DFO 50、100、200 μmol/L处理24 h后, 其增殖率分别为95.52%、93.65%、94.29%, 和对照组相比无统计学意义, 组间相比亦无统计学意义, 其原因有待于进一步研究.

胰腺癌为消化系常见肿瘤, 其恶性度高、进展快、预后差, 5年存活率仅为1%-3%. 随着诊疗技术的改进, 胰腺癌诊断率及手术切除率均有所提高, 围手术期死亡率及并发症发生率亦有显著降低, 但其治疗效果仍不理想, 分析其原因主要与胰腺癌细胞多药耐药有关. GEM是治疗胰腺癌的首选化疗药物, 由于胰腺癌细胞获得性或内在的耐药性致使其总体有效率不足20%, 近年来GEM联合非细胞毒性药物以增强其化疗敏感性成为研究的热点, 王若天等[17]研究发现联合应用姜黄素与GEM可显著抑制PANC-1细胞增殖率, 且呈时间依赖性. 曾勇等[18]研究发现大黄素与GEM联用可显著抑制BxPC-3细胞增殖率, 其抑制作用强于任一单用药物. 本研究发现DFO及GEM均可明显抑制PANC-1细胞增殖率, 二者联用可进一步抑制PANC-1细胞的增殖, 两者具有协同作用. 对于GEM耐药PANC-1细胞, 即使将GEM浓度提高至100 μmol/L对其增殖率亦无明显影响, 但DFO可显著抑制其增殖. 因此, 我们认为DFO可作为胰腺癌综合治疗的一种新的选择, 特别是GEM耐药胰腺癌患者.

总之, 本研究结果显示铁螯合剂DFO对胰腺癌PANC-1细胞株的增殖有明显的抑制作用, 而且与GEM具有协同作用; 对于GEM耐药PANC-1细胞DFO亦可明显抑制其增殖, 虽然其确切机制尚未明了, 铁螯合剂仍有望作为胰腺癌综合治疗的一种新的选择, 特别是GEM耐药的患者, 为胰腺癌患者带来新的希望.

4 参考文献

1 Chua AC, Graham RM, Trinder D, Olynyk JK. The regulation of cellular iron metabolism. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2007; 44: 413-459 [PMID: 17943492]
2 Zhang AS, Enns CA. Molecular mechanisms of normal iron homeostasis. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2009: 207-214 [PMID: 20008200 DOI: 10.1182/asheducation-2009.1.207]
3 Muñoz M, Villar I, García-Erce JA. An update on iron physiology. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 4617-4626 [PMID: 19787824]
4 Le NT, Richardson DR. The role of iron in cell cycle progression and the proliferation of neoplastic cells. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1603: 31-46 [PMID: 12242109]
5 Yu Y, Kovacevic Z, Richardson DR. Tuning cell cycle regulation with an iron key. *Cell Cycle* 2007; 6: 1982-1994 [PMID: 17721086]
6 Bohnsack BL, Hirschi KK. Nutrient regulation of cell cycle progression. *Annu Rev Nutr* 2004; 24: 433-453 [PMID: 15189127 DOI: 10.1371/journal.pone.0040594]
7 Huang X. Iron overload and its association with cancer risk in humans: evidence for iron as a carcinogenic metal. *Mutat Res* 2003; 533: 153-171 [PMID: 14643418 DOI: 10.1016/j.cell.2008.01.052]
8 Toyokuni S. Role of iron in carcinogenesis: cancer as a ferrotoxic disease. *Cancer Sci* 2009; 100: 9-16 [PMID: 19018762 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2008.01001.x]
9 Yu Y, Gutierrez E, Kovacevic Z, Saletta F, Obeidy P, Suryo Rahmanto Y, Richardson DR. Iron chelators for the treatment of cancer. *Curr Med Chem* 2012; 19: 2689-2702 [PMID: 22455580 DOI: 10.1038/sj.onc.1208007]
10 Hidalgo M. Pancreatic cancer. *N Engl J Med* 2010; 362: 1605-1617 [PMID: 20427809 DOI: 10.1056/NEJMra0901557]
11 Shah AN, Summy JM, Zhang J, Park SI, Parikh NU, Gallick GE. Development and characterization of gemcitabine-resistant pancreatic tumor cells. *Ann Surg Oncol* 2007; 14: 3629-3637 [PMID: 17909916 DOI: 10.1038/embor.2011.257]
12 Dayani PN, Bishop MC, Black K, Zeltzer PM. Desferoxamine (DFO)--mediated iron chelation: rationale for a novel approach to therapy for brain cancer. *J Neurooncol* 2004; 67: 367-377 [PMID: 15164994 DOI: 10.1016/j.cellsig.2011.08.011]
13 Shao J, Zhou B, Chu B, Yen Y. Ribonucleotide reductase inhibitors and future drug design. *Curr Cancer Drug Targets* 2006; 6: 409-431 [PMID: 16918309]
14 Gao J, Richardson DR. The potential of iron chelators of the pyridoxal isonicotinoyl hydrazone class as effective antiproliferative agents, IV: The mechanisms involved in inhibiting cell-cycle progression. *Blood* 2001; 98: 842-850 [PMID: 11468187]
15 汤有才, 贾国存, 李丰益, 廖清奎, 张冬梅, 王军. 铁剥夺抗K562细胞的增殖作用及机制. 实用儿科临床杂志 2007; 22: 180-182
16 Saletta F, Suryo Rahmanto Y, Noulsri E, Richardson DR. Iron chelator-mediated alterations in gene expression: identification of novel iron-regulated molecules that are molecular targets of hypoxia-inducible factor-1 alpha and p53. *Mol Pharmacol*

2010; 77: 443-458 [PMID: 20023006 DOI: 10.1124/mol.109.061028]
17 王若天, 钱明, 田园. 姜黄素联合吉西他滨对人胰腺癌Panc-1细胞增殖的影响. 中国生化药物杂志 2012; 33: 449-451
18 曾勇, 刘岸, 童洪飞, 邱麦轩, 林胜璋. 大黄素联合吉西他滨对体外人胰腺癌细胞株BxPC-3生长及凋亡的影响. 中国中西医结合杂志 2011; 31: 552-554

编辑 田滢 电编 闫晋利

■同行评价
本文有一定创新性, 目前未见铁螯合剂对胰腺癌作用方面的研究, 仅在其他肿瘤中有报道, 研究结果数据较为可靠, 讨论分析恰当, 本文的结果对于阐明肿瘤细胞的耗铁机制有一定参考价值.

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》出版流程

本刊讯 《世界华人消化杂志》[ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569]是一份同行评议性和开放获取(open access, OA)的旬刊, 每月8、18、28号按时出版. 具体出版流程介绍如下:

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

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

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

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

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

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

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

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

《世界华人消化杂志》从收稿到发行每一步都经过严格审查, 保证每篇文章高质量出版, 是消化病学专业人士发表学术论文首选的学术期刊之一. 为保证作者研究成果及时公布, 《世界华人消化杂志》保证每篇文章四月内完成. (《世界华人消化杂志》编辑部)

世界华人消化杂志 2013年4月28日; 21(12): 1114-1119
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

沈阳市成年居民脂肪肝的流行病学调查

林连捷, 曹 男, 郑长青, 林 艳, 王东旭, 金 玉

■背景资料
脂肪肝是由多种病因引起的肝内脂肪蓄积过多的病理学状态, 包括单纯脂肪性肝病、脂肪性肝炎、肝纤维化或肝硬化, 可以发展至终末期肝病, 随着饮食结构和生活方式的转变, 脂肪肝在一般人群中的发病率呈现逐年上升趋势.

林连捷, 曹男, 郑长青, 林艳, 王东旭, 金玉, 中国医科大学附属盛京医院消化内科 辽宁省沈阳市 110004
林连捷, 副教授, 副主任医师, 主要从事肝病的相关研究.
辽宁省科学技术基金资助项目, No. 2010225008
辽宁省博士科研启动基金资助项目, No. 20081048
沈阳市科学技术基金资助项目, No. F10-205-1-17
作者贡献分布: 林连捷与曹男对此文所作贡献均等; 此课题由林连捷与曹男设计; 研究过程由林连捷、曹男、郑长青、林艳、王东旭及金玉完成; 数据分析由林连捷完成; 本论文写作由林连捷与曹男完成.
通讯作者: 林连捷, 副教授, 副主任医师, 110004, 辽宁省沈阳市铁西区滑翔路39号, 中国医科大学附属盛京医院消化内科.
audreylin73@hotmail.com
收稿日期: 2013-03-11 修回日期: 2013-03-21
接受日期: 2013-04-13 在线出版日期: 2013-04-28

An epidemiological survey of prevalence of fatty liver disease in a general adult population in Shenyang

Lian-Jie Lin, Nan Cao, Chang-Qing Zheng, Yan Lin, Dong-Xu Wang, Yu Jin

Lian-Jie Lin, Nan Cao, Chang-Qing Zheng, Yan Lin, Dong-Xu Wang, Yu Jin, Department of Gastroenterology, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China
Supported by: the Science and Technology Foundation of Liaoning Province, No. 2010225008; the Doctoral Scientific Research Foundation of Liaoning Province, No. 20081048; the Shenyang Municipal Science and Technology Foundation, No. F10-205-1-17
Correspondence to: Lian-Jie Lin, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Shengjing Hospital of China Medical University, 39 Huaxiang Road, Tiexi District, Shenyang 110004, Liaoning Province, China. audreylin73@hotmail.com
Received: 2013-03-11 Revised: 2013-03-21
Accepted: 2013-04-13 Published online: 2013-04-28

Abstract

AIM: To investigate the prevalence of and major risk factors for fatty liver in adult residents in Shenyang.

METHODS: A total of 1 100 subjects who underwent physical examination in our center from August 2011 to November 2011 were included in this study. The survey included questionnaire investigation, physical examination, laboratory examination, and ultrasonic abdomen examination. The diagnosis of fatty liver disease was based on criteria adopted by the China Institute of Liver Disease and Alcoholic Liver Disease Group, and the prevalence of and major risk factors for fatty liver disease were investigated.

RESULTS: The prevalence of fatty liver in 1 100 detected cases was 41.64%. Males had a higher prevalence than females (45.15% *vs* 37.45%, χ^2 = 6.557, P < 0.05). Age between 41 and 50 years was the peak age for the development of the disease (47.92%), while the prevalence of fatty liver had a significantly increased trend in the age groups of 21-30 years and 31-40 years (33.33% and 46.25%). The difference in the prevalence of fatty liver disease between the city's different regions was not significant (χ^2 = 0.336, P > 0.05). There was a higher incidence of the disease in workers, civil servants, and general staff (χ^2 = 72.381, P < 0.05). The mean age, body mass index (BMI), systolic blood pressure (SBP), diastolic blood pressure (DBP), uric acid (UA), triglycerides (TG), fasting-serum glucose level (GLUO), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and liver enzyme indicators (including γ-glutamyl transpeptidase, γ-GT, aspartate transaminase, (alanine aminotransferase and alkaline phosphatase) were significantly higher in the fatty liver group than in the group without fatty liver disease (χ^2 = 285.521, P < 0.001). The proportion of fatty liver was significantly increased with the increase in BMI. Logistic regression analysis demonstrated a close correlation between fatty liver disease and age, sex (male), BMI, SBP, DBP, UA, ApoB, LDL-C, TG and GLUO.

CONCLUSION: The prevalence of fatty liver disease was high, especially in middle-aged persons in Shenyang region. Age, sex, overweight or obesity, hypertension, glucose metabolism disorders, dyslipidemia and hyperuricemia were closely associated with the development of fatty liver disease.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Fatty liver disease; Epidemiological; Risk factors

Lin LJ, Cao N, Zheng CQ, Lin Y, Wang DX, Jin Y. An

■同行评议者
迟宝荣, 教授, 吉林大学第一医院消化内科

epidemiological survey of prevalence of fatty liver disease in a general adult population in Shenyang. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(12): 1114-1119 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1114.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1114

摘要

目的: 了解沈阳市成年居民脂肪肝的患病情况及相关危险因素.

方法: 选取2011-08/2011-11于我院体检的人员1 100例, 内容涉及问卷调查、体格检查、实验室检测及腹部超声检查. 采用2010年中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组规定的脂肪肝诊断标准, 统计被纳入对象的脂肪肝患病情况, 并对其各项指标进行比较, 分析其可能的危险因素.

结果: 沈阳市居民脂肪肝的患病率41.64%, 男性患病率明显高于女性(45.15% *vs* 37.45%, χ^2 = 6.557, P<0.05), 研究发现41-50岁仍然是此病发病的高峰年龄段(47.92%), 但21-30岁、31-40岁脂肪肝的患病率有明显增高趋势, 分别占33.33%, 46.25%. 对比市内5区与大东区、于洪区、浑南新区及苏家屯区等地区的脂肪肝患病率, 差异无显著性(χ^2 = 0.336, P>0.05). 分析研究对象职业分布显示工人、公务员、普通职员脂肪肝发病率较高(χ^2 = 72.381, P<0.05). 单因素分析显示, 体质量指数(body mass index, BMI)、收缩压(systolic blood pressure, SBP)、舒张压(diastolic blood pressure, DBP)、尿酸(uric acid, UA)、甘油三酯(triglyceride, TG)、空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)、低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)以及肝脏酶学指标, 包括γ谷氨酰转肽酶(γ-glutamyl transpeptidase, γ-GT)、天冬氨酸氨基转移酶(aspartate transaminase, AST)、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)均显著高于非脂肪肝组(均P<0.001). 研究脂肪肝与BMI之间的关系我们发现随着体质量指数的增加, 脂肪肝所占的比例呈明显增高趋势(χ^2 = 285.521, P<0.001). 进一步多因素Logistic回归结果显示年龄、性别(男)、BMI、SBP、DBP、UA、ApoB、LDL-C、TG、FPG等9项指标与脂肪肝发病明显相关.

结论: 沈阳市居民脂肪肝的患病率较高, 其中以中年人居多, 并与性别、超体质量、肥胖、高血压、糖代谢紊乱、血脂异常、高尿酸血症等密切相关.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 脂肪肝; 流行病学; 危险因素

核心提示: 沈阳市居民脂肪肝的患病率较高, 其中以中年人居多, 并与性别、超体质量、肥胖、高血压、糖代谢紊乱、血脂异常、高尿酸血症等密切相关, 我们应该引起对脂肪肝的重视, 从改变生活及饮食习惯开始, 更好地预防脂肪肝疾病的发生.

林连捷, 曹男, 郑长青, 林艳, 王东旭, 金玉. 沈阳市成年居民脂肪肝的流行病学调查. 世界华人消化杂志 2013; 21(12): 1114-1119 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1114.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1114

■**研发前沿** 关于沈阳市居民脂肪肝患病情况的调查尚无相关研究, 本研究旨在对沈阳市成年居民脂肪肝患病状况及危险因素进行调查分析, 从而更有效的预防当地人群脂肪性肝病的发生.

0 引言

脂肪肝是由多种病因引起的肝内脂肪蓄积过多的病理学状态, 包括单纯脂肪性肝病、脂肪性肝炎、肝纤维化或肝硬化, 可以发展至终末期肝病, 随着饮食结构和生活方式的转变, 脂肪肝在一般人群中的发病率呈现逐年上升趋势[1]. 沈阳是东北地区重要的中心城市, 是政治、经济、文化、交通、商贸、科技和信息中心. 拥有数百万的人口, 近几年, 关于各省市地区脂肪肝的流行病学调查研究也越来越多, 但对沈阳市居民脂肪肝患病情况的调查尚无相关研究, 本研究旨在对沈阳市成年居民脂肪肝患病状况及危险因素进行调查分析, 从而更有效的预防脂肪性肝病的发生.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2011-08/2011-11具有完整资料的中国医科大学附属盛京医院体检中心的健康体检者1 100例, 均来自沈阳市内5区(沈河区、和平区、铁西区、皇姑区、大东区)以及周边东陵区、于洪区和浑南新区和苏家屯区4个区. 其中男598例(54.36%), 女502例(45.63%), 男女比例1.19∶1.00, 年龄21-60岁, 平均45.33岁±12.82岁, 职业涉及工人、农民、教师、记者、普通职员、管理人员及公务员等十多个行业.

1.2 方法

1.2.1 资料收集标准: (1)采用统一设计的调查表, 由专业医生对体检人员进行规范讲解, 通过其知情同意进行问卷调查, 包括年龄、性别、工作性质、既往史与用药史、烟酒史、饮食及生活习惯等; (2)由经过专业培训的医师按照统一标准进行体格检查, 详细记录. 采用统一身高体质量测量仪进行测量, 测量时空腹、赤脚、双

■相关报道
2010年O'Shea等通过研究指出脂肪肝不仅可导致肝病相关残疾和死亡, 而且与动脉粥样硬化性心脑血管事件的高发密切相关.

足并拢、挺胸直立, 体质量精确到0.1 kg, 身高精确到0.1 cm, 体质量指数(body mass index, BMI) = 体质量/身高^2(kg/m^2); 采用全自动电子血压计测量静息10 min以上的血压; (3)所有研究对象均禁食水8 h以上接受肝胆脾超声检查及空腹血清标本测定肝功、肝炎病毒、空腹血糖、血脂、肾功, 全血标本测定血白细胞数、红细胞数、血小板数和血红蛋白.

1.2.2 资料分组: 将所有纳入对象1 100例分为脂肪肝组(458例)和非脂肪肝组(642例); 在458例脂肪肝中, 分成酒精性脂肪肝组(373例)和非酒精性脂肪肝组(85例)两个亚组.

1.2.3 排除标准: 恶性肿瘤、病毒性肝炎标志物阳性、慢性胰腺炎、肝硬化失代偿期、孕妇及哺乳期妇女.

1.2.4 诊断标准: (1)脂肪肝的诊断依据中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组2010年修订的非酒精性脂肪性肝病诊断标准和酒精性肝病诊断标准[2,3]; (2)血糖分级参照1999年WHO专家委员会报告及2003年国际糖尿病专家委员会建议: 空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)3.9-5.5 mmol/L为正常, FPG 5.6-6.9 mmol/L为空腹血糖调节受损(impaired fasting glucose, IFG), FPG≥7.0为糖尿病; (3)高血压病参照1999年WHO标准: 收缩压(systolic blood pressure, SBP)≥140 mmHg或舒张压(diastolic blood pressure, DBP)≥90 mmHg; (4)血脂异常参照2007年中华心血管学会制定的血脂异常防治指南[4]; (5)高尿酸血症诊断标准为: 男>420 μmol/L, 女>360 μmol/L; (6)BMI分级采用中国肥胖问题工作组数据汇总分析协作组的诊断标准[5]. BMI<18.5为体质量过低, 18.5≤BMI<24为正常, 24≤BMI<28为超质量, BMI≥28为肥胖; (7)慢性饮酒: 饮酒50 g/d以上, 连续5年以上; 吸烟: 至少吸1支/d且连续6 mo以上; 喜肥食或甜食: 至少有3 d/wk吃肥肉或甜食; 经常锻炼: 锻炼3次/wk以上, 且每次超过30 min.

统计学处理 采用SPSS17.0软件, 计量资料结果以mean±SD表示, 计数资料采用χ^2检验, 危险因素分析采用Logistic多元回归分析, 以P<0.05表示差异有统计学意义.

2 结果

2.1 一般资料 在1 100例研究对象中, 男女之间年龄差异无显著性. 根据诊断标准, 超声诊断出脂肪肝患者458例(41.64%), 非脂肪肝患者652例(59.27%). 在脂肪肝患者中, 男270例, 女188例. 其中男性脂肪肝患病率明显高于女性(45.15% *vs* 37.45%, χ^2 = 6.557, P<0.05). 对年龄进行划分, 发现31-40岁组、41-50岁组的脂肪肝患病率最高, 21-30岁的发病率也有明显提高(χ^2 = 23.967, P<0.01). 与大东区、于洪区、浑南新区及苏家屯区等地区相比, 市内5区人群脂肪肝的患病率略有增高, 但差异无统计学意义(χ^2 = 0.336, P>0.05, 表1). 本科及本科以上学历共868例, 脂肪肝占38.25%(332例), 本科以下学历共232例, 脂肪肝占47.41%(110例); 月收入3 000及以上者579例, 脂肪肝占49.05%(284例), 月收入3 000以下者521例, 脂肪肝占34.36%(179例), 差异均有显著性.

表 1 各组间患病率的比较

分组		脂肪肝	
		n	百分比(%)
总体		458	41.64
地区	市内五区	267	42.38
	其他地区	191	40.64
年龄(岁)	21–30	80	33.33
	31–40	148	46.25
	41–50	127	47.92
	51–60	48	31.58
	61–70	55	25.00

2.2 脂肪肝在不同职业的分布 分析所有研究对象职业分布, 结果显示不同职业脂肪肝的发病率不同, 差异有显著性, 其中工人、公务员、普通职员脂肪肝发病率较高(表2).

2.3 各项指标在脂肪肝组与非脂肪肝组的比较 单因素分析显示, 总胆红素(total bilirubin, TBIL)、直接胆红素(direct bilirubin, DBIL)、间接胆红素(indirect bilirubin, IBIL)在脂肪肝组和非脂肪肝组均无明显差异(均P>0.05), BMI、SBP、DBP、UA、TG、FPG以及肝脏酶学指标, 包括γ谷氨酰转肽酶(γ-glutamyl transpeptidase, γ-GT)、谷草转氨酶(glutamic-oxaloacetic transaminase, ASP)、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)均显著高于非脂肪肝组(均P<0.001), 而HDL-C、载脂蛋白A1则显著低于非脂肪肝组(均P<0.001, 表3). 其中, 我们进一步研究了脂肪肝和BMI的关系, 结果发现随着体质量指数的增加, 脂肪肝所占的比例呈明显增高趋势(表4).

2.4 脂肪肝多因素Logistic回归分析 应用二项分

表 2 不同职业脂肪肝的患病率比较

	工人	农民	教师	公务员	普通职员	记者	外勤人员	技术人员	其他
脂肪肝数	68	18	32	110	126	29	22	23	30
n(%)	(40.72)	(31.03)	(31.07)	(54.46)	(58.33)	(33.33)	(24.44)	(23.96)	(37.04)
总数	167	58	103	202	216	87	90	96	81

χ^2 = 72.381, P<0.05.

表 3 脂肪肝组与非脂肪肝组各项指标间的比较 (mean ± SD)

指标	脂肪肝组	非脂肪肝组	*t*值	*P*值
年龄(岁)	39.46 ± 9.10	36.33 ± 8.72	4.413	0.000
体质量指数(kg/m^2)	27.05 ± 2.95	22.97 ± 2.94	16.510	0.000
收缩压(mmHg)	134.46 ± 18.85	119.63 ± 17.23	10.267	0.000
舒张压(mmHg)	83.96 ± 12.87	74.46 ± 11.73	9.671	0.000
载脂蛋白B(g/L)	1.00 ± 0.24	0.89 ± 0.23	5.797	0.000
载脂蛋白A1(g/L)	1.13 ± 1.99	1.22 ± 0.20	–5.593	0.000
总蛋白(g/L)	73.88 ± 5.09	72.56 ± 6.45	2.698	0.007
白蛋白(g/L)	45.41 ± 2.24	44.48 ± 3.60	3.562	0.000
前白蛋白(g/L)	0.35 ± 0.37	0.29 ± 0.18	2.580	0.010
低密度脂蛋白胆固醇(mmol/L)	3.03 ± 0.79	2.82 ± 0.73	3.391	0.001
高密度脂蛋白胆固醇(mmol/L)	1.17 ± 0.27	1.46 ± 0.45	–8.696	0.000
空腹血糖(mmol/L)	6.03 ± 1.20	5.56 ± 1.00	5.315	0.000
甘油三酯(mmol/L)	2.67 ± 2.02	1.43 ± 1.15	10.010	0.000
总胆固醇(mmol/L)	4.84 ± 0.82	4.53 ± 0.78	4.669	0.000
总胆红素(μmol/L)	14.07 ± 6.00	13.82 ± 5.84	0.525	0.600
间接胆红素(μmol/L)	9.85 ± 4.27	9.33 ± 3.93	1.569	0.117
直接胆红素(μmol/L)	4.25 ± 1.78	4.49 ± 2.07	1.504	0.133
γ谷氨酰转肽酶(U/L)	46.34 ± 34.38	28.37 ± 33.09	5.315	0.000
胆碱酯酶(U/L)	10 355.48 ± 1 749.47	8 628.89 ± 1 774.23	12.018	0.000
谷草转氨酶(U/L)	26.09 ± 9.73	20.43 ± 7.15	8.575	0.000
谷丙转氨酶(U/L)	38.17 ± 23.46	20.59 ± 13.77	12.227	0.000
碱性磷酸酶(U/L)	79.71 ± 29.24	69.87 ± 19.89	6.047	0.000
尿酸(μmol/L)	404.18 ± 101.81	321.64 ± 96.07	10.064	0.000

类变量Logistic回归模型对上述各项指标进行逐步回归分析, 结果显示年龄、性别(男)、BMI、SBP、DBP、UA、ApoB、LDL-C、TG、GLUO等9项指标与脂肪肝明显相关(表5).

3 讨论

脂肪肝是由多种因素和疾病引起的肝脏脂肪性变, 近几年来, 正如国外报道, 脂肪肝的发病率在逐年上升[6]. 本资料显示, 本市成年居民脂肪肝患病率41.64%, 男性患病率明显高于女性(45.15% *vs* 37.45%), 与以往的文献报道基本一致[7]. 而且发病年龄有明显年轻化趋势, 对年龄进行划分, 发现31-40岁组、41-50岁组的脂肪肝患病率最高, 而且调查发现21-30岁的发病率也有明显提高(χ^2 = 23.967, P<0.01), 对于高收入者和从事工人、公务员、普通职员等职业的脂肪肝发病率比较高, 可能与从事这些行业的人平时不健康的生活习惯有关. 另外, 本调查对沈阳市各区居民进行调查, 发现市内五区人群脂肪

表 4 脂肪肝与体质量指数的关系

体质量指数	总人数	脂肪肝	所占比例(%)
<24	388	39	10.05
≥24, <28	396	192	48.48
≥28	316	227	71.84
合计	1 100	458	41.64

χ^2 = 285.521, P<0.001.

■同行评价

我国脂肪肝发病率呈上升趋势, 本文在对沈阳市成年居民脂肪肝患病状况及危险因素进行调查分析, 研究结果体现该地区脂肪肝患病数据, 文章结构清晰, 结果、结论明确, 对临床工作及患者的健康教育有一定指导意义.

表 5 脂肪肝组患病多因素Logistic回归分析

	回归系数	标准误	Wald	*P*值	OR值	95%CI
年龄	0.037	0.016	5.443	0.020	1.038	1.006–1.071
性别	1.939	0.472	16.857	0.000	6.951	2.755–17.540
体质量指数	0.372	0.055	45.043	0.000	1.451	1.301–1.617
收缩压	0.025	0.004	47.811	0.000	1.021	1.019–1.045
舒张压	0.046	0.011	18.494	0.000	1.047	1.026–1.070
载脂蛋白B	1.274	0.589	4.681	0.031	3.576	1.127–11.344
尿酸	0.007	0.001	22.553	0.000	1.007	1.004–1.010
甘油三酯	0.690	0.072	92.671	0.000	1.999	1.732–2.294
低密度脂蛋白胆固醇	0.346	0.087	18.344	0.000	1.448	1.251–1.718
空腹血糖	0.599	0.153	15.363	0.000	1.821	1.349–2.457

肝的患病率比大东区、于洪区、浑南新区及苏家屯区等地区的患病率高, 但差异并无统计学意义(χ^2 = 0.336, *P*>0.05). 而对于本市周边的一些地区和城乡之间的差别本调查并没有涉列, 若想得到更为确切的结果, 有待于进一步研究.

调查发现, 40-50岁是本病发病的一个高峰年龄. 以往的研究都表明脂肪肝与肥胖、高血糖、高血脂、高血压、高尿酸血症密切相关[8-10], 对脂肪肝组和非脂肪肝组各项指标进行比较, 发现BMI、SBP、DBP、UA、TG、FPG以及肝脏酶学指标, 包括γ-GT、ASP、ALP、ALP均显著高于非脂肪肝组(均*P*<0.001), 提示脂肪肝与胰岛素抵抗为中心的多元代谢紊乱密切相关, 与有关报道一致[11].

对脂肪肝组和非脂肪肝组对比有显著差别的指标进一步进行多元Logistic回归分析, 结果显示脂肪肝的危险因素包括年龄、性别(男)、BMI、SBP、DBP、UA、ApoB、LDL-C、TG、GLUO等9项指标与脂肪肝明显相关. 在脂肪肝的发病过程中, 肥胖、血糖、血脂都是重要因素, 高血糖可以刺激胰岛素分泌增加, 引起高胰岛素血症, 使肝脏合成甘油三酯和极低密度脂蛋白的量增加, 导致血中甘油三酯升高, 逐渐聚积在肝内, 形成脂肪肝. 曾有学者Marchesini等[12]研究发现胰岛素抵抗是脂肪肝形成的独立危险因素, 胰岛素抵抗发生时, 脂肪动员就会增加, 血中FFA会跟着显著增加, 导致甘油三酯在肝脏中沉积. 高脂血症中高甘油三酯是脂肪肝形成的主要因素[13], 而高密度胆固醇是脂肪肝的保护因素. 肥胖仍然是脂肪肝的最常见的危险因素, 本研究进一步对脂肪肝与BMI的关系做了分析, 结果显示随着体质量指数的增加, 脂肪肝所占的比例呈明显增高趋势. 据统计肥胖合并高血压的人患脂肪肝的概率是正常人的2.68倍[14], 因此我们更要重视脂肪肝相关危险因素的防治.

脂肪肝不仅可导致肝病相关残疾和死亡, 而且与动脉粥样硬化性心脑血管事件的高发关系密切[15]. 单纯脂肪肝变性呈现良性、非进展性经过, 而脂肪性肝炎则可演进为肝硬化、肝衰竭甚至肝癌. 现代生活水平的提高、饮食结果的改变和缺乏体育锻炼是导致肥胖的主要原因, 体力劳动或者运动过少, 会导致体内能量大量过剩, 脂肪聚积. 但是由于脂肪肝早期缺乏特异的临床症状和表现, 使人们不易察觉, 对其潜在危害更是认识不足.

因此, 通过本文的研究, 我们应该加强对脂肪肝的重视, 从改变生活及饮食习惯开始, 更好地预防脂肪性肝病的发生.

4 参考文献

1 Cheng HY, Cheng DQ. [Advances of studies on relative evaluation indexes for acupuncture and moxibustion treatment of senile dementia]. *Zhongguo Zhenjiu* 2006; 26: 605-608 [PMID: 16941987 DOI: 10.1002/hep.21347]

2 中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南. 中华肝脏病杂志 2010; 18: 163-166

3 中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 酒精性肝病诊疗指南. 中华肝脏病杂志 2010; 8: 167-170

4 中国成人血脂异常防治指南制定联合委员会. 中国成人血脂异常防治指南. 中华心血管病杂志 2007; 35: 390-409

5 中国肥胖问题工作组数据汇总分析协作组. 我国成人体质量指数和腰围对相关疾病危险因素异常的预测价值: 适宜体质量指数和腰围切点的研究. 中华流行病学杂志 2002; 23: 5-10

6 Chen CH, Huang MH, Yang JC, Nien CK, Yang CC, Yeh YH, Yueh SK. Prevalence and etiology of elevated serum alanine aminotransferase level in an adult population in Taiwan. *J Gastroenterol Hepatol*

2007; 22: 1482-1489 [PMID: 17716352 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2006.04615.x]
7 Fan JG, Farrell GC. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease in China. *J Hepatol* 2009; 50: 204-210 [PMID: 19014878 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.10.010]
8 Lee YJ, Lee HR, Lee JH, Shin YH, Shim JY. Association between serum uric acid and non-alcoholic fatty liver disease in Korean adults. *Clin Chem Lab Med* 2010; 48: 175-180 [PMID: 19961393 DOI: 10.1515/CCLM.2010.037]
9 Diehl AM. Hepatic complications of obesity. *Gastroenterol Clin North Am* 2005; 34: 45-61 [PMID: 15823438 DOI: 10.1016/j.gtc.2004.12.012]
10 Jimba S, Nakagami T, Takahashi M, Wakamatsu T, Hirota Y, Iwamoto Y, Wasada T. Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease and its association with impaired glucose metabolism in Japanese adults. *Diabet Med* 2005; 22: 1141-1145 [PMID: 16108839 DOI: 10.1111/j.1464-5491.2005.01582.x]
11 厉有名, 陈卫星, 虞朝辉, 乐敏, 刘有恃, 徐根云, 季峰, 李舒丹. 浙江省酒精性肝病流行病学调查概况. 中华肝脏病杂志 2003; 11: 647-649
12 Marchesini G, Brizi M, Morselli-Labate AM, Bianchi G, Bugianesi E, McCullough AJ, Forlani G, Melchionda N. Association of nonalcoholic fatty liver disease with insulin resistance. *Am J Med* 1999; 107: 450-455 [PMID: 10569299]
13 Hamaguchi M, Kojima T, Takeda N, Nakagawa T, Taniguchi H, Fujii K, Omatsu T, Nakajima T, Sarui H, Shimazaki M, Kato T, Okuda J, Ida K. The metabolic syndrome as a predictor of nonalcoholic fatty liver disease. *Ann Intern Med* 2005; 143: 722-728 [PMID: 16287793]
14 Zhou YJ, Li YY, Nie YQ, Ma JX, Lu LG, Shi SL, Chen MH, Hu PJ. Prevalence of fatty liver disease and its risk factors in the population of South China. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 6419-6424 [PMID: 18081233]
15 O'Shea RS, Dasarathy S, McCullough AJ. Alcoholic liver disease. *Hepatology* 2010; 51: 307-328 [PMID: 20034030 DOI: 10.1002/hep.23258]

编辑 田滢 电编 闫晋利

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

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

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

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

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

世界华人消化杂志 2013年4月28日; 21(12): 1120-1125
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

广西婴儿特发性肝内胆汁淤积*SLC25A13*基因突变的筛查

伍秋频, 王琳琳, 陈秀奇, 唐 清, 单庆文, 黄 丽, 连淑君, 云 翔, 高国鹏, 陈 允

■背景资料
目前证实*SLC25A13*突变可导致成人发病Ⅱ型瓜氨酸血症(adult-onset-type Ⅱ citrullinemia, CTLN2))及柠檬素(Citrin, *SLC25A13*基因编码产物)缺乏性新生儿肝内胆汁淤积症(neonatal intrahepatic cholestasis caused by Citrin deficiency, NICCD)两大类常染色体隐性遗传病. 国内外相关研究表明, *SLC25A13*基因的热点突变呈现明显的地域和种族差异, 不同人群中*SLC25A13*基因的突变形式和频率有很大差别.

伍秋频, 王琳琳, 陈秀奇, 唐清, 单庆文, 黄丽, 连淑君, 云翔, 高国鹏, 陈允, 广西医科大学第一附属医院儿科 广西壮族自治区南宁市 530021
伍秋频, 在读硕士, 主要从事儿科消化系疾病的相关研究.
广西自然科学基金资助项目, No. 2011jjA40108
作者贡献分布: 此课题由王琳琳、伍秋频、陈秀奇、唐清、单庆文、黄丽、连淑君、云翔、高国鹏及陈允设计; 病历资料收集及把关由王琳琳、伍秋频、唐清、陈秀奇、单庆文、黄丽、连淑君、云翔、高国鹏及陈允完成; 研究过程由伍秋频操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由王琳琳与唐清提供; 数据分析由伍秋频与王琳琳完成; 本论文写作由伍秋频与王琳琳完成.
通讯作者: 王琳琳, 教授, 主任医师, 博士生导师, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路6号, 广西医科大学第一附属医院儿科. wll276@yahoo.com.cn
电话: 0771-5356505
收稿日期: 2013-02-21 修回日期: 2013-03-11
接受日期: 2013-03-29 在线出版日期: 2013-04-28

Screening of *SLC25A13* gene mutations in infants with idiopathic intrahepatic cholestasis in Guangxi

Qiu-Pin Wu, Lin-Lin Wang, Xiu-Qi Chen, Qing Tang, Qing-Wen Shan, Li Huang, Shu-Jun Lian, Xiang Yun, Guo-Peng Gao, Yun Chen

Qiu-Pin Wu, Lin-Lin Wang, Xiu-Qi Chen, Qing Tang, Qing-Wen Shan, Li Huang, Shu-Jun Lian, Xiang Yun, Guo-Peng Gao, Yun Chen, Department of Pediatrics, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Supported by: the Natural Science Foundation of Guangxi, No. 2011jjA40108
Correspondence to: Lin-Lin Wang, Professor, Chief Physician, Department of Pediatrics, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 6 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. wll276@yahoo.com.cn
Received: 2013-02-21 Revised: 2013-03-11
Accepted: 2013-03-29 Published online: 2013-04-28

Abstract

AIM: To screen *SLC25A13* gene mutations in idiopathic infantile hepatitis cholestasis in Guangxi, China.

METHODS: Sixty-three patients with idiopathic infantile cholestasis, who were hospitalized in the Department of Pediatrics of the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University from September 2010 to June 2012, and 50 infants without intrahepatic cholestasis were included in this study. Genomic DNA was prepared from peripheral blood of all subjects for further analysis. For the case group, Citrin deficiency was screened using the tandem mass spectrometry (MS-MS, using blood samples) and gas chromatography mass spectrometry (GC-MS, using urine samples). Direct gene sequencing was performed in patients who were suspected to have Citrin deficiency. Twelve common *SLC25A13* gene hot-spot mutations were screened by polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism (PCR-SSCP) in the remaining patients and controls.

RESULTS: MS-MS and GC-MS analyses suggested that five patients were suspected to have Citrin deficiency, but the 12 common *SLC25A13* gene hot-spot mutations were not detected in these patients in a further DNA sequencing analysis. The 12 common *SLC25A13* gene hot-spot mutations were also not detected by PCR-SSCP in the remaining patients and controls.

CONCLUSION: The 12 common *SLC25A13* gene hot-spot mutations were not found in patients who were suspected to have Citrin deficiency and the other patients and controls. Other rare *SLC25A13* gene mutations should be screened in more patients.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Infants; Idiopathic intrahepatic cholestasis; *SLC25A13*; NICCD; Polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism

Wu QP, Wang LL, Chen XQ, Tang Q, Shan QW, Huang L, Lian SJ, Yun X, Gao GP, Chen Y. Screening of *SLC25A13* gene mutations in infants with idiopathic intrahepatic cholestasis in Guangxi. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(12): 1120-1125 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1120.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1120

摘要

目的: 对广西婴儿特发性肝内胆汁淤积的患者进行*SLC25A13*基因筛查, 了解有无突变.

■同行评议者
樊红, 教授, 东南大学医学院发育与疾病相关基因教育部重点实验室; 莫发荣, 副教授, 广西医科大学组织学与胚胎学教研室

方法: 收集2010-09/2012-06就诊于广西医科大学第一附属医院的婴儿特发性肝内胆汁淤积的患者63例作为病例组, 另选取50例无肝内胆汁淤积, 肝功能正常的婴儿为对照组. 病例组患者送检血串联质谱、尿气相质谱分析筛查, 对串联质谱怀疑为Citrin病的病例全部直接进行DNA测序分析. 同时对阴性病例组及对照组采用聚合酶链反应-单链构象多态性(polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism, PCR-SSCP)联合DNA测序技术对*SLC25A13*基因国内外报道最常见的12种热点突变进行筛查, 了解有无*SLC25A13*基因突变.

结果: 在病例组进行蛋白质串联质谱分析有5例考虑为Citrin缺陷病, 在进一步的DNA序列直接测序当中, 未发现*SLC25A13*基因的12种常见突变. 在其余病例组和正常组当中, PCR-SSCP筛查当中, 均未发现相关的12种常见突变.

结论: 串联质谱分析考虑为Citrin缺陷病的5例患者、其余病例组患者及正常对照组当中均未发现*SLC25A13*基因常见的12种突变, 广西婴儿特发性肝内胆汁淤积是否会存在*SLC25A13*基因的其他少见突变, 仍需进一步的研究证实, 包括纳入更多的样本研究及对其他未报道过的外显子进行研究.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: **婴儿特发性肝内胆汁淤积**; *SLC25A13*; NICCD; **聚合酶链反应–单链构象多态性**

核心提示: 本文对5例高度怀疑为Citrin缺陷病的患者进行研究, 其他病例组及对照组在经过聚合酶链反应-单链构象多态性(polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism)和DNA直接测序突变筛查研究中都没有发现*SLC25A13*基因12种常见突变, 这可能与地域和种族差异有关.

伍秋频, 王琳琳, 陈秀奇, 唐清, 单庆文, 黄丽, 连淑君, 云翔, 高国鹏, 陈允. 广西婴儿特发性肝内胆汁淤积*SLC25A13*基因突变的筛查. 世界华人消化杂志 2013; 21(12): 1120-1125 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1120.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1120

0 引言

婴儿肝内胆汁淤积发病率约为1/2 500-1/5 000, 是儿童最常见的肝病类型之一. 我国一些地区进行的遗传代谢选择性筛查研究结果[1]表明, 在中国遗传代谢病高危患者中阳性率居第2位, 仅次于甲基丙二酸尿症. 尽管新的诊断技术不断发展, 大概有70%的婴儿肝内胆汁淤积目前仍找不到确切的发病原因, 被称为特发性婴儿肝内胆汁淤积, 相关研究认为遗传代谢扮演一定的作用, 随着技术发展将来可能被逐渐阐明. Ohura等在2001年首先在日本对婴儿肝内胆汁淤积症患者进行遗传代谢病筛查发现存在*SLC25A13*基因突变, 目前证实*SLC25A13*突变可导致Ⅱ型瓜氨酸血症(adult-onset-type Ⅱ citrullinemia, CTLN2)及柠檬素(Citrin, *SLC25A13*基因编码产物)缺乏性新生儿肝内胆汁淤积症(neonatal intrahepatic cholestasis caused by Citrin deficiency, NICCD)两大类常染色体隐性遗传病[2,3]. 国内外相关研究表明, *SLC25A13*基因的热点突变呈现明显的地域和种族差异[4]. 不同人群中*SLC25A13*基因的突变形式和频率有很大差别, 日本的报道以突变[Ⅰ]85lde14和[Ⅱ]ⅣS1l+1G>A居多, 中国人群常见的突变类型为[Ⅰ]851-854del4、[Ⅲ]1638ins23、[Ⅹ]ⅣS6+5G>A. 日本健康人群中*SLC25A13*基因突变携带者率为1/65; 韩国健康人群中突变携带者率为1/108; 中国健康人群中突变携带者率1/63[5]. Lu等[6]对正常中国人突变筛查显示851del4(70%), 1638ins23(3%)和ⅣS6+5G>A(23%)突变在中国人中多见. 此外, 以长江为界, 南方人群的突变携带率明显高于北方人群[7]. 其中南方人群中以湖南、广东、香港多见. 本研究通过PCR-单链构象多态性(polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism, PCR-SSCP)和DNA直接测序技术, 对广西患者的特发性婴儿肝内胆汁淤积患者进行*SLC25A13*基因的常见12种热点突变筛查研究, 了解广西患者特发性婴儿肝内胆汁淤积有无*SLC25A13*基因突变情况.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2010-09/2012-06在广西医科大学第一附属医院儿科住院的特发性婴儿肝内胆汁淤积性肝炎患者63例. 病例组纳入标准[8]: 婴儿期(包括新生儿期)起病; 黄疸难消退或退而复升, 黄疸属于肝细胞性, 血清结合胆红素和未结合胆红素均可升高, 但以结合胆红素增高为主; 肝大和/或脾大, 质地改变; 肝功能损害: 以丙氨酸转氨酶、门冬氨酸转移酶及胆汁酸升高为主; 除外胆道闭锁, 肝炎病毒、巨细胞病毒、梅毒螺旋体、结核杆菌、弓形虫及人类免疫缺陷病毒感染等. 病例组全部进行串联质谱检查; 所有

■相关报道
邱文娟等在2007年对就诊于上海交通大学医学院附属新华医院和上海儿童医学中心治疗并随访的NICCD患者12例进行基因测序, 结果12例患者只发现5例携带有*SLC25A13*基因的致病突变.

■创新盘点

*SLC25A13*基因的热点突变呈现明显的地域和种族差异. 不同人群中*SLC25A13*基因的突变形式和频率有很大差别. 本研究采用PCR-SSCP和DNA直接测序技术探讨广西婴儿特发性肝内胆汁淤积症患者有无*SLC25A13*基因的12种常见热点突变.

表 1 PCR扩增*SLC25A13*外显子的基因序列

突变类型	引物序列	外显子	产物长度(bp)
[Ⅰ]851-854del	上游5'-AAAGGAGGTTAGGAGGAGGGC-3'	9	321
	下游5'-GGCAACTGCAAGTGGAACAGG-3'		
[Ⅱ]IVS11+1G>A	上游 5'-TGCAGAACCAACGATCAACTG-3'	11	205
	下游 5'-ACGCAGTCTTGCTAATTCATGT-3'		
[Ⅲ]1638-1660dup23	上游 5'-TGTTGTGTCTCTCCTGCAGG-3'	16	123
	下游 5'-GCAGTCTATCACTCCGCTGT-3'		
[Ⅳ]S225X	上游 5'-GGAGAGTACAAGTTCTGGTC-3'	7	426
	下游 5'-ACTAGTTGCCTTCTTCACCC-3'		
[Ⅴ]IVS13+1G>A	上游 5'-GTGAACGATTTTGTGAGGGATA-3'	13	210
	下游 5'-CCTAGTAGACTCTGCCCTTG-3'		
[Ⅵ]1800-1801insA	上游 5'-CTAATTATATCTGTGATTTCTCCA-3'	17	307
	下游 5'-GGAGTTGATACATTCTCATCAG-3'		
[Ⅶ]R605X	上游 5'-CTAATTATATCTGTGATTTCTCCA-3'	17	307
	下游 5'-GGAGTTGATACATTCTCATCAG-3'		
[Ⅷ]E601X	上游 5'-CTAATTATATCTGTGATTTCTCCA-3'	17	307
	下游 5'-GGAGTTGATACATTCTCATCAG-3'		
[Ⅸ]E601K	上游 5'-CTAATTATATCTGTGATTTCTCCA-3'	17	307
	下游 5'-GGAGTTGATACATTCTCATCAG-3'		
[Ⅹ]IVS6+5G>A	上游5'-TGAGGGCTTGTTAGATCAAGAT -3'	6	467
	下游 5'-TTACCCAGACAACAAATTAACCT-3'		
[Ⅺ]R184X	上游 5'-TGAGGGCTTGTTAGATCAAGAT -3'	6	467
	下游 5'-TTACCCAGACAACAAATTAACCT-3'		
[ⅪⅤ]Ⅳ+1G>C	上游 5'-TGAGGGCTTGTTAGATCAAGAT -3'	6	467
	下游 5'-TTACCCAGACAACAAATTAACCT-3'		

患者均进行上述检查, 纳入研究对象严格参照上述标准执行. 同期随机在广西医科大学第一附属医院选取相同年龄段且肝功能正常且家属无肝炎病史的患者50例为对照组. 所有受检对象均签署由医院伦理委员会批准的知情同意书.

1.2 方法

1.2.1 血串联质谱分析: 患者全血标本采集用干血滤纸片法, 滴于专用采血滤纸(S&S903#)上晾干后送检. 样品处理: 采用文献报道的方法, 干血滤纸片经含酰基肉碱和氨基酸内标的甲醇萃取, 盐酸正丁醇衍生后, 加入80%乙腈100 μL溶解, 即可上样检测. 仪器采用美国生物应用系统公司串联质谱仪(API 200型), 高效液相仪采用美国安捷仑公司(Agilent 1100)产品. 定量分析采用美国应用生物系统公司软件ChemoView 1.2版本. 采用美国疾病控制和预防中心(Centers for Disease Control and Prevention, CDC)新生儿筛查质控部门提供的串联质谱酰基肉碱血滤纸片. 串联质谱检测的肉碱和氨基酸正常上、下限值取1 480例健康儿童的第99.8和0.002百分位, 参考美国CDC报告的参考值设定.

1.2.2 尿气相色谱质谱有机酸分析: 收集63例患者新鲜尿液5-10 mL. 样品处理: 采用文献报道的方法, 尿样中加入尿素酶后, 37 ℃温育30 min, 加入托品酸、17烷酸、24酸, 加入盐酸羟胺、氢氧化钠, 混匀后室温静置60 min. 加入盐酸, 离心分取上清液, 加入乙酸乙酯, 离心分取上清液,再加入乙酸乙酯5 mL, 分取上清液. 加入无水硫酸, 离心除去水分, 再次分取上清液, 60 ℃下用氮气仪吹干. 最后加入BSTFA与TMCS混合物80 ℃衍生30 min, 移至日本岛津GCMS2QP 2010分析仪分析.

1.2.3 基因组DNA提取: 在清晨空腹状态下受试者分别抽取外周血2 mL, EDTA抗凝, 用DNA提取试剂盒(天根生物科技北京有限公司), 严格按照说明书操作, 提取DNA.

1.2.4 *SLC25A13*基因的扩增: 选择亚洲人中最常见的12种*SLC25A13*基因突变并设计引物, 引物均来源于文献[9,10], 引物见表1(引物由上海生工生物工程有限公司合成). PCR反应体系为; Premix Tap(CWBIO)13 μL, DNA模板1 μL, 上下游引物各0.5 μmol/L, ddH_2O补充体积至25 μL,

表 2 PCR扩增*SLC25A13*外显子的反应条件

扩增子	预变性(℃, min)	变性(℃, s)	退火(℃)	延伸(℃, min)	循环次数
外显子6	94, 3	94, 30	55	72, 1	35
外显子7	94, 3	94, 30	56	72, 1	35
外显子9	94, 3	94, 30	62	72, 1	30
外显子11	94, 3	94, 30	50	72, 1	40
外显子13	94, 3	94, 30	57	72, 1	35
外显子16	94, 3	94, 30	60	72, 1	35
外显子17	94, 3	94, 30	54	72, 1	35

最后一个循环延伸4 min.

■应用要点

本文可为婴儿肝内胆汁淤积的病因提供实验室数据. *SLC25A13*基因常见的12种热点突变可能并非本地区的常见突变位点, 突变位点可能存在于其他外显子和/或内含子邻近区域突变.

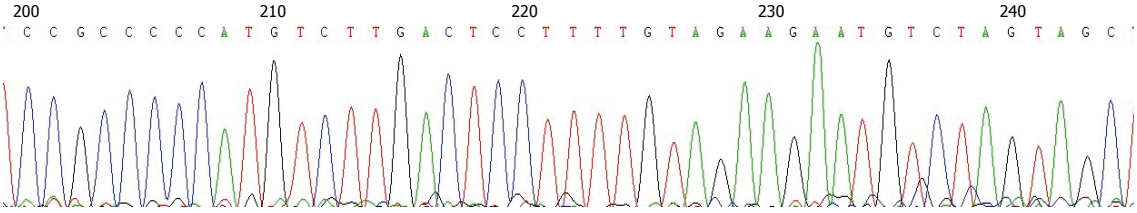


图 1 DNA外显子5正常测序图.

具体扩增条件见表2.

1.2.5 PCR-SSCP: 取PCR产物3 μL加入上样缓冲液9 μL混匀, 经98 ℃变性10 min后迅速放入散冰中5-10 min, 室温条件下在非变性聚丙烯酰胺凝胶(39∶1)下进行电泳5-7 h. 聚丙烯酰胺凝胶的染色与显色分析; 电泳后的聚丙烯酰胺凝胶用固定液浸泡5-10 min, 用染色液(0.2%的$AgNO_3$、1%的冰醋酸、10%的无水乙醇)进行银染10 min, 蒸馏水漂洗2次, 加入显影液(3%的无水NaOH, 每200 mL溶液加1 mL甲醛)进行显色, 最后直接用蒸馏水直接终止显色[11].

1.2.6 Citrin缺陷病基因测序分析: 病例组患者送检血串联质谱、尿气相质谱分析筛查, 对串联质谱筛查怀疑为Citrin病的病例直接进行测序分析. 其余经PCR-SSCP分析. PCR产物用ABI-PRISM3730进行测序分析. 所得的序列结果与GenBank基因库上所提供的*SLC25A13*基因正常序列进行比对, 以发现突变位点, 并验证PCR扩增产物均为目的基因片段. PCR-SSCP未发现异常条带的外显子也分别进行直接测序, 以验证PCR扩增的产物均为目的基因片段.

2 结果

2.1 经血串联质谱、尿气相质谱分析怀疑为NICCD的患者肝功能检测结果见表3.

2.2 血串联质谱分析和尿气相质谱有机酸分析结果见表4.

5例患者血串联质谱检测氨基酸和酰基肉碱结果(μmol/L)及尿气相质谱分析. 经血串联质谱检测, 所有患者甲硫氨酸、瓜氨酸、苏氨酸均升高, 除2号外酪氨酸都升高, 并有长链C14-1、C16-1升高. C18-1有2例患者增高. 经尿气相质谱分析, 所有患者的苯乳酸-2、4-羟基苯乳酸都升高, 除4号外4-羟基苯乙酸-2都升高, 2号患者未测到4-羟基苯丙酮酸, 其余均升高(表4). 其余病例组及正常组儿童的7个外显子PCR产物均进行SSCP筛查, 7个外显子均未发现异常条带. 未发现异常条带的外显子也分别抽取进行测序. 均未发现相关的12种常见突变, 测序结果见图1.

3 讨论

人类*SLC25A13*基因位于染色体7q21.3, 此基因含18个外显子, 长度约为200 kb. 由675个氨基酸组成, 编码的蛋白质称希特林蛋白(Citrin)[12], 相对分子质量为74 000. 研究表明, Citrin是主要表达于肝细胞线粒体内膜的一种钙调节蛋白, 含有4个EF手模体和6个跨膜结构域, 其功能主要是作为线粒体中天冬氨酸/谷氨酸载体, 将线粒体内合成的天冬氨酸转运到胞质, 同时把胞质中的谷氨酸和质子转运进线粒体内.

研究证实Citrin缺陷症是我国婴儿肝内胆汁淤积症的重要原因之一[13], 大部分合并多种氨基酸谱异常的肝内胆汁淤积症均因Citrin缺陷引起[14]. 到2010年为止*SLC25A13*基因已经报

■同行评价
本文针对广西婴儿特发性肝内胆汁淤积的患者进行*SLC25A13*基因筛查，具有地域和种族特色，结果提示并不是全部怀疑为Citrin缺陷的患者都存在*SLC25A13*基因突变. 实验方法可靠，实验数据可信，可为婴儿肝内胆汁淤积的病因提供实验室数据.

表 3 5例疑似为新生儿肝内胆汁淤积症患儿肝功能

项目	1	2	3	4	5	mean ± SD	参考范围
总胆红素(μmol/ L)	153.9	118.7	91.8	230.8	115.6	143.24 ± 54.62	3.00–22.00
直接总胆汁酸(μmol/ L)	57.7	68	71.9	171.1	70.3	87.80 ± 46.80	0.00–6.00
胆红素(μmol/ L)	244.8	196.7	103.5	226.8	211	196.56 ± 55.02	0.00–10.00
谷丙转氨酶(U/L)	22	78	88	42	25	51.00 ± 30.39	5.00–40.00
谷草转氨酶(U/L)	98	201	117	118	132	133.20 ± 39.78	8.00–45.00
谷氨酰转肽酶(U/L)	183	343	1007	58	94	337.00 ± 390.36	0.00–50.00
血乳酸(mmol/L)	3.04	4.69	–	3.19	4.9	3.95 ± 0.97	0.63–2.44
血氨(μg/dL)	183	101	130	177	151	148.40 ± 33.93	0.00–75.00

表 4 5例考虑为Citrin缺陷病患儿血串联质谱和尿气相质谱分析

项目	1	2	3	4	5	mean ± SD	参考范围
血串联质谱							
甲硫氨酸	107.44	90.4	58.5	54.54	98.7	81.91 ± 23.99	8–35
酪氨酸	114.17	53.57	195.34	142.25	132.7	127.54 ± 51.20	20–100
瓜氨酸	127.36	101.0	71.06	75.09	90.53	93.00 ± 22.64	7–35
苏氨酸	117.7	115.18	106.34	108.74	121.2	113.83 ± 6.18	15–100
C14–1	0.29	0.37	0.39	0.38	0.31	0.34 ± 0.04	0.02–0.25
C16–1	3.57	2.84	5.27	2.4	4.13	3.64 ± 1.12	0.3–2
C18–1	1.23	0.68	1.67	0.56	0.76	0.98 ± 0.46	0.2–1.2
尿气相质谱分析							
苯乳酸–2	17.98	8.92	32.61	7.74	13.25	16.1 ± 10.07	0–4.9
4–羟基苯乙酸	326.03	87.9	465.8	62.95	97.5	208.03 ± 178.93	8.6–73.2
4–羟基苯乳酸–2	2 656.56	963.02	487.53	2 218.3	1 784.3	1 621.9 ± 890.7	0–7
4–羟基苯丙酮酸	12.55	–	26.83	2.78	4.75	11.72 ± 10.91	0–0.9

道了54种突变，包括17种错义，14种剪切突变，13种无义5种插入，5种缺失[15,16]. 其中12种突变为热点突变，国内外相关研究表明，*SLC25A13*基因的热点突变呈现明显的地域和种族差异. 目前国内文献报道851del4、1638ins23和IVS6+5G>A突变在中国人中多见. 本研究中，病例组行血串联质谱分析、尿气相质谱分析筛查出5例怀疑为Citrin蛋白缺陷症，DNA测序直接分析报道的最常见的12种常见热点均未发现突变. 患者临床体征、血生化和蛋白质酰基肉碱谱分析对诊断NICCD有重要的作用[17]，但NICCD的确诊仍然只有依赖基因诊断，即检测*SLC25A13*基因有无突变，但有文献报道大约仍有5%-6%的病例监测不到突变. 与有关的文献报道相似，并不是全部怀疑为Citrin缺陷的患者都存在*SLC25A13*基因突变. 邱文娟等[18]在2007年对就诊于上海交通大学医学院附属新华医院和上海儿童医学中心治疗并随访的NICCD患者12例进行基因测序，结果12例患者只发现5例携带有*SLC25A13*基因的致病突变.

本研究从亚洲人群中报道的*SLC25A13*常见的12种热点突变着手探讨特发性婴儿肝内胆汁淤积*SLC25A13*基因突变情况，对经串联质谱分析结果：1号患者甲硫氨酸、酪氨酸级瓜氨酸显著增高，伴多种长链酰基肉碱增高，4-羟基苯乳酸、4-羟基苯丙酮酸增高，提示Citrin蛋白缺乏，提示酪氨酸尿；2号患者蛋氨酸、亮氨酸、缬氨酸、瓜氨酸、苏氨酸升高，需除外Citrin缺乏症(NICCD)，进一步可行基因明确诊断. 4-羟基苯乳酸显著增高，结合串联质谱结果提示Citrin蛋白缺乏；3号患者蛋氨酸、瓜氨酸、酪氨酸、苏氨酸增高，多种长链酰基肉碱偏高，考虑Citrin蛋白缺陷所致新生儿肝内胆汁淤积症可能. 苯乳酸、4-羟基苯乳酸、4-羟基苯丙酮酸增高，结合串联质谱，提示NICCD；4号患者蛋氨酸、酪氨酸、瓜氨酸、苏氨酸明显升高，结合病史，考虑Citrin蛋白缺陷症. 4-羟基苯乳酸明显升高，结合串联质谱结果，符合Citrin蛋白缺陷症；5号患者蛋氨酸、酪氨酸、瓜氨酸、苏氨酸明显升高，考虑Citrin蛋白缺乏症. 苯乳酸、4-

羟基苯乳酸, 结合串联质谱分析, 符合Citrin缺乏症. 对高度怀疑为Citrin缺陷病的5例患者进行DNA直接测序分析, 未发现*SLC25A13*基因的12种常见突变, 同时在正常患者对照组及其他黄疸患者的DNA突变筛查研究也没有发现*SLC25A13*基因突变. 这可能与地域和种族差异有关. *SLC25A13*基因常见的12种热点突变可能并非本地区的常见突变位点, 突变位点可能存在于其他外显子和/或内含子邻近区域突变. 因此, 广西特发性婴儿肝内胆汁淤积患者是否存在其他*SLC25A13*基因突变需要进一步的研究证实. 我们将进一步扩大研究, 对*SLC25A13*基因全部外显子进行筛查, 同时用更大的样本量来证实这一观点.

4 参考文献

1 Song YZ, Li BX, Hao H, Xin RL, Zhang T, Zhang CH, Kobayashi K, Wang ZN, Zheng XY. Selective screening for inborn errors of metabolism and secondary methylmalonic aciduria in pregnancy at high risk district of neural tube defects: a human metabolome study by GC-MS in China. *Clin Biochem* 2008; 41: 616-620 [PMID: 18291102 DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2008.01.025]

2 Ohura T, Kobayashi K, Tazawa Y, Nishi I, Abukawa D, Sakamoto O, Iinuma K, Saheki T. Neonatal presentation of adult-onset type II citrullinemia. *Hum Genet* 2001; 108: 87-90 [PMID: 11281457]

3 Saheki T, Kobayashi K. Mitochondrial aspartate glutamate carrier (citrin) deficiency as the cause of adult-onset type II citrullinemia (CTLN2) and idiopathic neonatal hepatitis (NICCD). *J Hum Genet* 2002; 47: 333-341 [PMID: 12111366 DOI: 10.1007/s100380200046]

4 佐伯武赖, 小林圭子, 张春花, 王建设. Citrin缺陷病及其研究带来的启示. 中国循证儿科杂志 2010; 5: 401-403

5 Yasuda T, Yamaguchi N, Kobayashi K, Nishi I, Horinouchi H, Jalil MA, Li MX, Ushikai M, Iijima M, Kondo I, Saheki T. Identification of two novel mutations in the SLC25A13 gene and detection of seven mutations in 102 patients with adult-onset type II citrullinemia. *Hum Genet* 2000; 107: 537-545 [PMID: 11153906 DOI: 10.1007/s004390000430]

6 Lu YB, Kobayashi K, Ushikai M, Tabata A, Iijima M, Li MX, Lei L, Kawabe K, Taura S, Yang Y, Liu TT, Chiang SH, Hsiao KJ, Lau YL, Tsui LC, Lee DH, Saheki T. Frequency and distribution in East Asia of 12 mutations identified in the SLC25A13 gene of Japanese patients with citrin deficiency. *J Hum Genet* 2005; 50: 338-346 [PMID: 16059747 DOI: 10.1007/s10038-005-0262-8]

7 Tabata A, Sheng JS, Ushikai M, Song YZ, Gao HZ, Lu YB, Okumura F, Iijima M, Mutoh K, Kishida S, Saheki T, Kobayashi K. Identification of 13 novel mutations including a retrotransposal insertion in SLC25A13 gene and frequency of 30 mutations found in patients with citrin deficiency. *J Hum Genet* 2008; 53: 534-545 [PMID: 18392553 DOI: 10.1007/s10038-008-0282-2]

8 邓亚楠, 王琳琳, 陈秀奇, 唐清, 高国鹏, 单庆文, 云翔. 胆盐输出泵基因多态性与特发性婴儿肝炎肝内胆汁瘀积的关系. 实用儿科临床志 2011; 26: 1497-1505

9 张绍仁, 王晓红, 朱启镕, 刘丽艳, 王建设. 婴儿肝内胆汁淤积症SLC25A13基因突变分析. 中国循证儿科杂志 2008; 3: 190-195

10 温鹏强, 王国兵, 陈占玲, 崔冬, 袁泉, 宋萍, 陈淑丽, 廖建湘, 李成荣. Citrin缺陷导致的新生儿肝内胆汁淤积症SLC25A13基因分析. 中国当代儿科杂志 2011; 13: 330-338

11 梁宏伟, 王长忠, 李忠, 罗相忠, 邹桂伟. 聚丙烯酰胺凝胶快速, 高效银染方法的建立. 遗传 2008; 30: 1379-1382

12 Kobayashi K, Sinasac DS, Iijima M, Boright AP, Begum L, Lee JR, Yasuda T, Ikeda S, Hirano R, Terazono H, Crackower MA, Kondo I, Tsui LC, Scherer SW, Saheki T. The gene mutated in adult-onset type II citrullinaemia encodes a putative mitochondrial carrier protein. *Nat Genet* 1999; 22: 159-163 [PMID: 10369257 DOI: 10.1038/9667]

13 Fu HY, Zhang SR, Yu H, Wang XH, Zhu QR, Wang JS. Most common SLC25A13 mutation in 400 Chinese infants with intrahepatic cholestasis. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 2278-2282 [PMID: 20458766 DOI: 10.3748/wjg.v16.i18.2278]

14 Fu HY, Zhang SR, Wang XH, Saheki T, Kobayashi K, Wang JS. The mutation spectrum of the SLC25A13 gene in Chinese infants with intrahepatic cholestasis and aminoacidemia. *J Gastroenterol* 2011; 46: 510-518 [PMID: 20927635 DOI: 10.1007/s00535-010-0329-y]

15 宋元宗, 牛饲美晴, 盛建胜, 胡務亮, 张春花, 小林圭子. Citrin缺陷导致的新生儿肝内胆汁淤积症SLC25A13基因三个新突变的识别及诊断. 中华儿科杂志 2008; 46: 411-415

16 Dimmock D, Kobayashi K, Iijima M, Tabata A, Wong LJ, Saheki T, Lee B, Scaglia F. Citrin deficiency: a novel cause of failure to thrive that responds to a high-protein, low-carbohydrate diet. *Pediatrics* 2007; 119: e773-e777 [PMID: 17332192 DOI: 10.1542/peds.2006-1950]

17 Ohura T, Kobayashi K, Tazawa Y, Abukawa D, Sakamoto O, Tsuchiya S, Saheki T. Clinical pictures of 75 patients with neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency (NICCD). *J Inherit Metab Dis* 2007; 30: 139-144 [PMID: 17323144 DOI: 10.1007/s10545-007-0506-1]

18 邱文娟, 叶军, 韩连书, 高晓岚, 王瑜, 杨培蓉, 何振娟, 顾学范. citrin缺陷导致的新生儿肝内胆汁淤积症12例临床和实验室研究. 临床儿科杂志 2007; 25: 983-987

编辑 田滢 电编 闫晋利



世界华人消化杂志 2013年4月28日; 21(12): 1126-1130
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

温肾方免煎剂联合拉米夫定治疗HBeAg阳性慢性乙型肝炎脾肾阳虚证的疗效时间关系

白松林, 扈晓宇, 余 颜

■背景资料
拉米夫定(lamivudine, LAM)可明显抑制HBV DNA水平; HBeAg血清学转换率随治疗时间延长而提高, 治疗1、2、3、4和5年时分别为16%、17%、23%、28%和35%, 而LAM变异一般出现在LAM治疗后第(11.07±3.65)个月, 最早第5个月, 最迟第17个月. 增加疗效和缩短疗程是抗病毒能否取效的关键.

白松林, 余颜, 成都中医药大学第二附属医院 四川省成都市 610041
扈晓宇, 四川省中医院肝病科 四川省成都市 610072
白松林, 主治医师, 主要从事肝病的相关研究.
作者贡献分布: 本课题由白松林与扈晓宇共同设计; 本文由白松林完成; 余颜完成数据分析; 扈晓宇负责审校.
通讯作者: 扈晓宇, 教授, 610072, 四川省成都市金牛区十二桥路39号, 四川省中医院肝病科. meddmail@yahoo.com.cn
收稿日期: 2013-02-20 修回日期: 2013-03-12
接受日期: 2013-04-12 在线出版日期: 2013-04-28

Wenshenfang without decoction combined with lamivudine for treatment of HBeAg-positive chronic hepatitis B patients with kidney- and spleen-YANG deficiency syndrome: Relationship between duration and effect

Song-Lin Bai, Xiao-Yu Hu, Yan Yu

Song-Lin Bai, Yan Yu, the Second Affiliated Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610041, Sichuan Province, China
Xiao-Yu Hu, Sichuan Provincial Traditional Chinese Medicine Hospital, Chengdu 610072, Sichuang Province, China
Correspondence to: Xiao-Yu Hu, Professor, Sichuan Provincial Traditional Chinese Medicine Hospital, 39 Shierqiao Road, Jinniu District, Chengdu 610072, Sichuang Province, China. meddmail@yahoo.com.cn
Received: 2013-02-20 Revised: 2013-03-12
Accepted: 2013-04-12 Published online: 2013-04-28

Abstract

AIM: To observe the relation between time and curative effect of Wenshenfang without Decoction in combination with lamivudine in the treatment of HBeAg-positive chronic hepatitis B patients with syndrome of deficiency of kidney- and spleen-YANG to find optimal therapy time.

METHODS: Sixty-four HBeAg+ chronic hepatitis B patients with syndrome of deficiency of kidney- and spleen-YANG were equally and randomly divided into a treatment group and a control group. The control group was treated with lamivudine only, while the treatment group was treated with Wenshenfang without decoction in combination with lamivudine. Therapeutic effect was observed 3, 6, 9, and 12 mo after treatment. The changes in HBeAg and anti-HbeAg were monitored.

RESULTS: Compared to the control group, the HBeAg conversion rate at 6 mo was significantly increased in the treatment group (P = 0.031).

CONCLUSION: Wenshenfang without decoction in combination with lamivudine could significantly increase the HBeAg conversion rate. The optimal therapy time is 6 mo.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Wenshenfang; Lamivudine; Chronic hepatitis B; Curative effect; Time; Kidney-and spleen-YANG deficiency

Bai SL, Hu XY, Yu Y. Wenshenfang without decoction combined with lamivudine for treatment of HBeAg-positive chronic hepatitis B patients with kidney- and spleen-YANG deficiency syndrome: Relationship between duration and effect. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(12): 1126-1130 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1126.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1126

摘要

目的: 研究温肾方免煎剂联合拉米夫定治疗慢性乙型肝炎脾肾阳虚证疗效与时间的关系, 探讨中医“既病防变”干预慢性乙型肝炎的合适时间.

方法: 64例慢性乙型肝炎脾肾阳虚证(HBeAg阳性患者), 以DPS v8.01版软件随机分为治疗组和对照组, 治疗组给予温肾方免煎剂联合拉米夫定治疗, 对照组单用拉米夫定治疗, 疗程1年, 每组32例. 两组均在3、6、9、12 mo观察HBeAg、Anti-Hbe.

■同行评议者
白浪, 副教授, 四川大学华西医院感染性疾病中心

结果: 最终纳入63例患者, 研究中有1例对照组患者脱落, 在6 mo时两组比较, 治疗组HBeAg血清学转换率高于对照组, 差异有统计学意义(P = 0.031), 其余各时间段比较差异没有统计学意义.

结论: 温肾方免煎剂联合抗病毒治疗可以提高HBeAg血清学转换率, 其联合抗病毒的时间在耐药株尚未产生之前, 时间以6 mo较为适宜.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 温肾方; 拉米夫定; 慢性乙型肝炎; 脾肾阳虚证; 疗效; 时间

核心提示: 温肾方免煎剂联合拉米夫定(lamivudine)初始治疗6 mo可以促进HBeAg早期阴转, 提高血清学应答率, 缩短抗病毒疗程.

白松林, 扈晓宇, 余颜. 温肾方免煎剂联合拉米夫定治疗HBeAg阳性慢性乙型肝炎脾肾阳虚证的疗效时间关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(12): 1126-1130 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1126.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1126

0 引言

目前在慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)的诸多治疗措施当中, 抗病毒治疗是治疗的关键已经达成共识. 核苷(酸)类似物是主要的抗病毒类药物之一, 其最突出的问题是耐药, 随着用药时间的延长病毒变异率逐年增加, 这种抗病毒作用所带来的益处将被变异所取消, 甚至出现灾难性的治疗后果-导致肝功能衰竭的发生. 由于核苷(酸)类似物不能彻底清除肝细胞核内的cccDNA, 所以长期用药在所难免[1]. 拉米夫定(lamivudine, LAM)是在我国上市最早的核苷(酸)类似物, 用于CHB的抗病毒治疗, 疗效确切, 很多患者因该药的使用而从中受益, 肝功能改善, 肝脏组织病理学好转, 病情得到缓解, 但是随着用药时间的延长而逐渐出现耐药, 常见的耐药突变点位为乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)聚合酶催化反应区YMDD序列变异为YIDD(rtM204v), 并常伴有rtL180M变异[2-4]一旦变异株被筛选出来, 他们可能持续存在, 而这些变异株的出现, 形成了HBV的准种, 并影响到后续核苷(酸)类似物的治疗. 在一项研究中发现在由于发生拉米夫定变异后停用4年仍然可以检测出拉米夫定的耐药株, 有研究表明在患者接受核苷(酸)类似物的序贯治疗过程中, 很有可能导致多重耐药株的出现[5-7], 所以可以考虑及早预防病毒变异, 在病毒发生变异之前尽可能早的联合用药, 缩短抗病毒疗程, 从而减少变异的发生. 而理想联合的药物应是具有抗病毒疗效而耐药率极低的药物.

大量研究表明中药具有较强的抗HBV的复制作用, 目前尚无使用中药产生耐药变异的报道. 中医有“未病先防”的理论基础, 在CHB产生耐药株之前早期联合应用中药是否可以减少耐药的产生以及联合中药抗病毒疗效和时间的关系有待研究. 本研究使用附子理中免煎剂联合拉米夫定治疗HBeAg阳性慢性乙型肝炎脾肾阳虚证患者, 观察两种不同干预措施在不同时间可能出现的差异.

■研发前沿
大量研究认为温肾中药具有显著的免疫调节作用, 温肾法有助于乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)的清除、提高核苷类药物的抗病毒疗效, 以温肾中药抗病毒是目前的研究热点.

1 材料和方法

1.1 *材料* 选取2011-11-10/2012-11-10就诊于成都中医药大学附属医院肝病门诊和住院患者, 中医肝炎脾肾阳虚证诊断符合《中药新药临床研究指导原则》[8], 西医诊断符合慢性乙型肝炎防治指南(2010年版)[9], 并符合以下入选条件: 血清HBsAg持续阳性6 mo或以上, 具有肝炎症状、体征及肝功能异常, 2×正常值上限(ULN)≤ALT≤10×ULN; 胆红素<85.5 μmol/L者; HBeAg阳性者且10^5copies/mL≤HBV-DNA≤10^9copies/mL具有抗病毒治疗的一般适应证, 排除以下病例: 有拉米夫定服用史者, 妊娠或准备妊娠妇女、男性准备生育者、哺乳期妇女, 合并肝癌、肝性脑病以及严重的心脑血管、肺、肾、内分泌和造血系统严重原发疾病、精神病患者, 合并有其他肝炎病毒感染及各种原因引起的肝硬化, 筛选前一年用过抗病毒药、免疫调节剂或抑制剂、细胞毒药物或类固醇激素, 均予排除. 剔除终止标准如下: 纳入后发现不符合纳入标准的病例, 对药物过敏的患者, 受试者依从性差, 未按规定用药, 无法判断疗效或资料不全者, 病情较治疗前明显恶化, 或者医生认为必须退出者, 发生严重不良事件应中止试验, 出现严重并发症或病情迅速恶化者应中止试验, 发生并发症、研究者根据具体情况需停药者, 特殊生理变化(患者怀孕)不宜继续接受试验, 患者因某些个人原因决定中止治疗及失访者. 最终选取64例病例.

1.2 *方法* 对照组病例包括男27例, 女5例, 年龄为18-52岁, 平均年龄33.84岁±9.96岁. 研究中有1例对照组患者因某些个人原因决定中止治疗,

■相关报道
陈英杰等补肾健脾方对HBeAg阳性HBV携带者的抗病毒疗效不错, 其采用多中心、随机、双盲、安慰剂对照的临床研究方法.

表 1 两组患者人口学、基线生化、病毒指标比较

分组	对照组	治疗组	*P*值
n	31	32	
年龄(岁)	31.35 ± 9.08	33.84 ± 9.96	0.305
体质量(kg)	71.65 ± 5.94	72.96 ± 6.38	0.398
身高(m)	1.66 ± 0.60	1.67 ± 0.58	0.722
病程(年)	10.49 ± 5.44	10.52 ± 5.37	0.986
ALT(U/L)	139.3 ± 32.25	141.16 ± 31.36	0.823
AST(U/L)	127.45 ± 32.20	129.43 ± 31.96	0.807
TBIL(μmol/L)	14.37 ± 10.55	16.94 ± 10.55	0.213
PTA(%)	0.77 ± 0.11	0.76 ± 0.11	0.830
ALB(g/L)	38.59 ± 4.88	36.88 ± 3.40	0.107
HBV-DNA(Log拷贝/mL)	6.14 ± 1.15	6.21 ± 1.07	0.473

脱落率为3.12%, 共有63例患者(治疗组32例、对照组31例). 按研究方案完成1年治疗及1年随访, 患者依从性良好. 两组患者人口学、基线生化、病毒指标差异无统计学意义. 以DPS v8.01版软件随机分为温肾方免煎剂联合拉米夫定治疗组和单用拉米夫定对照组, 疗程1年. 每组32例, 治疗组: 以温肾方免煎剂, 药物组成: 制附片6 g、巴戟天30 g、菟丝子15 g、淫羊藿15 g、黄芪20 g、熟地黄15 g、桑寄生15 g、黄芩30 g、青蒿9 g、炙甘草5 g, 1次/d, po, 连用12 mo, 同时加服LMD 0.1 g,1次/d, po, 连用12 mo, 共1年, 100 mg/片. 免煎剂由四川绿色药业科技发展股份有限公司提供. LMD由苏州葛兰素威康制药公司提供. 对照组: 仅服用拉米夫定, 其剂型、规格、用法、疗程, 均与治疗组相同.

统计学处理 数据采用SPSS11.5统计分析软件处理, 计数资料采用χ^2检验, 计量资料以Shapiro-Wilk检验, 符合正态分布、方差齐性则采用*t*检验, 方差不齐采用*t'*检验; 不符合正态分布采用秩和检验. 数据以mean±SD表示. $P \leqslant 0.05$将被认为所检验的差别有统计学意义.

2 结果

两组患者人口学、基线生化、病毒指标差异无统计学意义(表1). 两组患者治疗3、6、9、12 mo后HBeAg血清学指标的变化比较, 在6 mo时两组比较差异有统计学意义($P<0.05$), 其余各时间段比较差异没有统计学意义. 研究表明: 6 mo时能明显提高血清学应答率. 在随后治疗时间延长至9 mo, 应答率虽然有提高, 但两组间没有统计学意义. 延长至12 mo, 应答率没有提高. 初步得出结论: 初始联合治疗6 mo是提高血清学应答的敏感时间(表2).

治疗组产生血清学应答的最早时间是在第6个月. 对照组产生血清学应答的最早是在第9个月, 表明中药的联合干预可以缩短疗程(表3, 4).

治疗过程中两组的血常规、尿常规、大便常规、肾功能、ECG等安全性检测均无异常改变.

3 讨论

目前核苷类似物的联合用药尚不成熟, 对于LAM出现耐药后的处理, ADV目前已成为YMDD变异的首选治疗措施, 然而由于ADV肾毒性的不良反应, 其剂量控制在10 mg, 1次/d, 使其对HBV的抑制作用较弱, 不能强有力的抑制病毒, 导致LAM和ADV的联合耐药株出现, 使后续治疗失败[7], 在LAM变异的患者中应用恩替卡韦后续治疗导致很高的耐药率发生. 而对HBeAg阳性CHB的抗病毒治疗, 以HBeAg/抗HBe血清转换及其持久性作为评价疗效的重要指标. 持久的血清学转换, 如伴有HBV-DNA保持阴性或低水平, 往往提示疾病缓解, 并发症减轻[10], 因此促进HBeAg早期阴转是缩短LAM疗程, 降低YMDD耐药变异发生率的关键. 不同的抗病毒药物对HBV有不同的作用靶位, 通过不同的作用靶位, 可以抑制HBV的复制和表达[11]. 中药有抗病毒作用, 联合中药可以通过不同的作用靶位, 抑制HBV的复制和表达, 提高抗病毒疗效, 缩短疗程, 降低YMDD变异.

适宜温肾方免煎剂患者的病因病机多种多样, 或其人素有阳虚之体, 寒湿内盛, 感受湿热而寒化, 或本有阳虚而后触冒寒湿者, 或其人先有湿热而后过用苦寒, 究其病程长, 无论因实致

表 2 治疗后两组血清学指标的变化比较 *n*(%)

治疗时间	分组	*n*	HBeAg转阴	HBeAg血清学转换
3 mo	对照组	31	0(0)	0(0)
	治疗组	32	2(6.2)	1(3.1)
	χ^2 = 2.613, *P* = 0.363			
6 mo	对照组	31	1(3.2)	0(0)
	治疗组	32	5(15.6)[a]	3(9.4)[a]
	χ^2 = 5.742, *P* = 0.040			
9 mo	对照组	31	6(19.4)	5(16.1)
	治疗组	32	9(28.1)	7(21.9)
	χ^2 = 1.362, *P* = 0.506			
12 mo	对照组	31	6(19.4)	5(16.1)
	治疗组	32	9(28.1)	7(21.9)
	χ^2 = 1.362, *P* = 0.506			

[a]*P*<0.05 *vs* 6 mo对照组.

表 3 治疗组治疗前后血清学指标变化的比较

疗程比较	HBeAg阴转/HBeAg血清学转换	
	χ^2值	*P*值
3 mo	2.708	0.238
6 mo	8.607	0.005
9 mo	22.458	0.000
12 mo	22.458	0.000

表 4 对照组治疗前后血清学指标变化的比较

疗程比较	HBeAg转阴/HBeAg血清学转换	
	χ^2值	*P*值
3 mo	0.000	1.000
6 mo	1.016	0.313
9 mo	13.291	0.000
12 mo	13.291	0.000

虚或因虚致实, 日积月累, 脏腑功能日衰, 终致脾肾阳气虚损, 而成脾肾阳虚证. 而湿邪是贯穿CHB病变过程始终的致病因子和病理产物, 同时湿邪久稽, 未有不伤阳者. 加之目前治疗CHB多以清利湿热立法, 苦寒清热之药长期应用往往导致脾阳虚损, 病久延及于肾. 药理学研究证明[12-14]巴戟天、桑寄生、黄芪、黄芩等均有较好的免疫调节、保护肝细胞、抑制HBV病毒的功能. 有人认为, 温肾中药具有显著的免疫调节作用: 温肾法可明显降低部分免疫耐受期CHB患者外周血中$CD4^+CD25^+$Tregs/$CD4^+$ T细胞的比例和*FoxP3*的基因表达水平, 明显改善患者外周血DC共刺激分子CD86、CD80、CD40、CD11c表达, 从而有助于HBV的清除、提高核苷类药物的抗病毒疗效[15].

LAM变异一般出现在LAM治疗后第(11.07±3.65)个月, 最早第5个月, 最迟第17个月[16], 即到第24周已经出现病毒学突破, LAM耐药突变将有可能对其他核苷类似物的后续治疗带来无药物可用的尴尬局面. 可见第24周之前的一段时间符合中医治疗未病的范畴.

本研究结果显示: 温肾方免煎剂联合LAM初始治疗6 mo可以促进HBeAg早期阴转, 提高血清学应答率, 缩短抗病毒疗程, 从而减少耐药株的产生. 因此早期初始联合中药抗病毒可能是应对耐药株产生的策略之一. 中药干预的好处是不会产生双重耐药, 即增加了抗病毒疗效又避免了单药续贯治疗的危害, 为后续治疗留下空间.

■创新盘点

本研究认为6 mo的时间可能已经产生了变异, 错过“治未病”时间, 把中医“治未病的思想”应用于慢性乙型肝炎的治疗, 即在选用疗效肯定的西药抗病毒治疗外, 加用中药的恰当干预预防病毒耐药株的产生.

4 参考文献

1 Lok AS. Navigating the maze of hepatitis B treatments. *Gastroenterology* 2007; 132: 1586-1594 [PMID: 17408643 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.02.040]

2 Liaw YF, Sung JJ, Chow WC, Farrell G, Lee CZ, Yuen H, Tanwandee T, Tao QM, Shue K, Keene ON, Dixon JS, Gray DF, Sabbat J; Cirrhosis Asian Lamivudine Multicentre Study Group. Lamivudine for patients with chronic hepatitis B and advanced liver disease. *N Engl J Med* 2004; 351: 1521-1531 [DOI: 10.1056/NEJMoa033364]

3 Allen MI, Deslauriers M, Andrews CW, Tipples GA, Walters KA, Tyrrell DL, Brown N, Condreay LD. Identification and characterization of mutations in hepatitis B virus resistant to lamivudine. Lamivudine Clinical Investigation Group. *Hepatology* 1998; 27: 1670-1677 [PMID: 9620341 DOI: 10.1002/hep.510270628]

4 Chen CJ, Yang HI, Su J, Jen CL, You SL, Lu SN, Huang GT, Iloeje UH. Risk of hepatocellular carci-

■同行评价
本文立题新颖, 设计严谨, 结论可信, 对于将来联合中药抗病毒具有很好的参考意义和临床价值.

noma across a biological gradient of serum hepatitis B virus DNA level. *JAMA* 2006; 295: 65-73 [PMID: 16391218 DOI: 10.1001/jama.295.1.65]
5 Yim HJ, Hussain M, Liu Y, Wong SN, Fung SK, Lok AS. Evolution of multi-drug resistant hepatitis B virus during sequential therapy. *Hepatology* 2006; 44: 703-712 [PMID: 16941700 DOI: 10.1002/hep.21290]
6 Villet S, Pichoud C, Villeneuve JP, Trépo C, Zoulim F. Selection of a multiple drug-resistant hepatitis B virus strain in a liver-transplanted patient. *Gastroenterology* 2006; 131: 1253-1261 [PMID: 17030194 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.08.013]
7 Villet S, Ollivet A, Pichoud C, Barraud L, Villeneuve JP, Trépo C, Zoulim F. Stepwise process for the development of entecavir resistance in a chronic hepatitis B virus infected patient. *J Hepatol* 2007; 46: 531-538 [PMID: 17239478 DOI: 10.1016/j.jhep.2006.11.016]
8 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 147
9 中华医学会肝病学分会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2010年版). 肝脏 2011; 16: 2-16
10 Liaw YF, Leung N, Guan R, Lau GK, Merican I, McCaughan G, Gane E, Kao JH, Omata M. Asian-Pacific consensus statement on the management of chronic hepatitis B: a 2005 update. *Liver Int* 2005; 25: 472-489 [PMID: 15910483 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2005.01134.x]
11 斯崇文. 从HBV的复制过程中认识抗HBV药物的作用、效果和抗HBV的策略. 临床肝胆病杂志 2000; 16: 131
12 Josephs MD, Bahjat FR, Fukuzuka K, Ksontini R, Solorzano CC, Edwards CK, Tannahill CL, MacKay SL, Copeland EM, Moldawer LL. Lipopolysaccharide and D-galactosamine-induced hepatic injury is mediated by TNF-alpha and not by Fas ligand. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2000; 278: R1196-R1201 [PMID: 10801287]
13 徐超斗, 张永祥, 杨明, 窦振国. 巴戟天寡糖的促免疫活性作用. 解放军药学学报 2003; 19: 466-468
14 李筠, 杨慧银. 复方黄芪颗粒治疗慢性乙型肝炎疗效与疗程的相关性. 中医杂志 2006; 47: 763
15 高月求. 中医药调控免疫是治疗慢性乙型肝炎优势环节. 中西医结合肝病杂志 2010; 20: 129-130
16 Leung NW, Lai CL, Chang TT, Guan R, Lee CM, Ng KY, Lim SG, Wu PC, Dent JC, Edmundson S, Condreay LD, Chien RN. Extended lamivudine treatment in patients with chronic hepatitis B enhances hepatitis B e antigen seroconversion rates: results after 3 years of therapy. *Hepatology* 2001; 33: 1527-1532 [PMID: 11391543 DOI: 10.1053/jhep.2001.25084]

编辑 田滢 电编 闫晋利

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》正文要求

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

世界华人消化杂志 2013年4月28日; 21(12): 1131-1135
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

应变率成像对研究肝硬化患者右心室纵向功能的价值

王 洁, 顾 鹏

王洁, 顾鹏, 川北医学院附属医院超声科 四川省南充市 637000
王洁, 在读硕士, 主要从事超声对肝硬化心脏功能的研究.
作者贡献分布: 此课题设计由顾鹏设计; 资料收集与数据分析由王洁完成; 本论文写作由王洁与顾鹏完成.
通讯作者: 顾鹏, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 637000, 四川省南充市顺庆区文化路63号, 川北医学院附属医院超声科, 四川省影像医学重点实验室. linda2621@sina.com
收稿日期: 2013-02-25 修回日期: 2013-03-23
接受日期: 2013-04-07 在线出版日期: 2013-04-28

Value of strain rate imaging in research of longitudinal function of the right ventricle in patients with liver cirrhosis

Jie Wang, Peng Gu

Jie Wang, Peng Gu, Department of Ultrasound, the Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, Sichuan Province, China
Correspondence to: Peng Gu, Professor, Chief Physician, Key Laboratory of Medical Imaging of Sichuan Province, Department of Ultrasound, the Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, 63 Wenhua Road, Shunqing District, Nanchong 637000, Sichuan Province, China. linda2621@sina.com
Received: 2013-02-25 Revised: 2013-03-23
Accepted: 2013-04-07 Published online: 2013-04-28

Abstract

AIM: To assess the value of ultrasound strain rate imaging in research of longitudinal function of the right ventricle (RV) in patients with liver cirrhosis.

METHODS: Sixty-two patients with liver cirrhosis were selected as an experimental group and were divided into three subgroups based on the Child-Hugh grade: level A (n = 20), level B (n = 22) and level C (n = 20), and another 30 healthy volunteers were included in a control group. The systolic peak strain rate (SRS), early diastolic peak strain rate (SRE) and atrial systole peak strain rate (SRA) of three segments of the RV free wall were measured. Tissue Doppler imaging was used to measure the Em and Am at the posterior tricuspid annuli.

RESULTS: The SRS, SRA and SRE of the base segment of the RV free wall were significantly decreased in the experimental group compared to the control group (-1.93 s^{-1} ± 0.11 s^{-1} *vs* -2.51 s^{-1} ± 0.88 s^{-1}, 1.43 s^{-1} ± 0.11 s^{-1} *vs* 1.59 s^{-1} ± 0.04 s^{-1}, 2.17 s^{-1} ± 0.08 s^{-1} *vs* 2.37 s^{-1} ± 0.13 s^{-1}; all P < 0.05). The SRS, SRE and SRA of the middle segment of the RV free wall were also significantly decreased in the experimental group compared to the control group (-1.69 s^{-1} ± 0.56 s^{-1} *vs* -1.97 s^{-1} ± 0.60 s^{-1}, 1.38 s^{-1} ± 0.38 s^{-1} *vs* 2.26 s^{-1} ± 0.70 s^{-1}, 1.36 s^{-1} ± 0.88s^{-1} *vs* 1.49 s^{-1} ± 0.04 s^{-1}; all P < 0.05). The SRS, SRE and SRA of the apex cordis segment of the RV free wall were also significantly decreased in the experimental group compared to the control group (-1.36 s^{-1} ± 0.31 s^{-1} *vs* -2.37 s^{-1} ± 0.78 s^{-1}, 1.47 s^{-1} ± 0.05 s^{-1} *vs* 1.79 s^{-1} ± 0.12 s^{-1}, 1.22 s^{-1} ± 0.05 s^{-1} *vs* 1.37 s^{-1} ± 0.10 s^{-1}; all P < 0.05). The peak early diastolic velocity and peak late diastolic velocity at the posterior tricuspid annuli in the experimental group were markedly decreased compared with those in the control group (0.12 m/s ± 0.03 m/s *vs* 0.19 m/s ± 0.02 m/s, 0.15 m/s ± 0.04 m/s *vs* 0.17 m/s ± 0.02 m/s, both P < 0.05).

CONCLUSION: Ultrasonic strain rate imaging allows for more accurate evaluation of longitudinal systolic and diastolic function of the RV in patients with liver cirrhosis and can help evaluate therapeutic effects and prognosis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Ultrasound strain rate imaging; Liver cirrhosis; Right ventricle function

Wang J, Gu P. Value of strain rate imaging in research of longitudinal function of the right ventricle in patients with liver cirrhosis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(12): 1131-1135 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1131.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1131

摘要

目的: 探讨运用超声应变率成像(strain rate imaging, SRI)观察肝硬化患者右心纵向功能改变的研究价值.

方法: 将62例肝硬化患者(排除了具有器质性

■背景资料
肝硬化是指各种原因所致的肝脏组织炎症、坏死发生的肝脏纤维化和残存肝细胞结节性再生. 肝硬化可发生多种并发症, 其中心血管并发症常导致患者预后较差, 因此肝硬化患者的心功能研究应受到高度重视.

■同行评议者
庄林, 主任医师, 昆明市第三人民医院肝病科

■研发前沿
肝硬化性左心功能受损方面的研究报道较多, 右心功能受损方面的报道相对较少, 但是, 在临床工作中肝硬化性右心功能受损方面的情况不少见, 而应用超声应变率成像测量右心功能是值得深入和系统研究的课题.

心脏病、糖尿病、高血压等疾病的患者)作为实验组. 另外30例排除了具有器质性心脏病、糖尿病、高血压等疾病的健康成人为正常对照组. 分别测量右心室游离壁3个节段收缩期峰值应变率(systolic peak strain rate, SRS)、舒张早期峰值应变率(early diastolic peak strain rate, SRE)及房缩期峰值应变率(atrial systole peak strain rate, SRA), 并运用常规测量右心功能的方法组织多普勒技术(tissue doppler imaging, TDI)测量三尖瓣前叶瓣环处舒张早期心肌运动速度(peak early diastolic velocity, Ve)、舒张晚期心肌运动速度(peak late diastolic velocity, Va).

结果: (1)肝硬化组右心室游离壁基底段SRS低于正常组(分别为: -1.93 s^{-1}±0.11 s^{-1}、-2.51 s^{-1}±0.88 s^{-1}, P<0.05), SRE低于正常组(分别为: 2.17 s^{-1}±0.08s^{-1}、2.37 s^{-1}±0.13 s^{-1}, P<0.0001), SRA低于正常组(分别为: 1.43 s^{-1}±0.11 s^{-1}、1.59 s^{-1}±0.04 s^{-1}, P<0.05); (2)肝硬化组右心室游离壁中间段SRS低于正常组(分别为: -1.69 s^{-1}±0.56 s^{-1}、-1.97 s^{-1}±0.60 s^{-1}, P<0.05), SRE低于正常组(分别为: 1.38 s^{-1}±0.38 s^{-1}、2.26 s^{-1}±0.70 s^{-1}, P<0.05), SRA低于正常组(分别为: 1.36 s^{-1}±0.88 s^{-1}、1.49 s^{-1}±0.04 s^{-1}, P<0.05); (3)肝硬化组心尖段SRS低于正常组(分别为: -1.36 s^{-1}±0.31 s^{-1}、-2.37 s^{-1}±0.78 s^{-1}, P<0.0001), SRE低于正常组(分别为: 1.47 s^{-1}±0.05 s^{-1}、1.79 s^{-1}±0.12 s^{-1}, P<0.05), SRA低于正常组(分别为: 1.22 s^{-1}±0.05 s^{-1}、1.37 s^{-1}±0.10 s^{-1}, P<0.05); (4)三尖瓣前叶瓣环处Ve及Va均低于正常组(肝硬化组Ve、Va分别为: 0.12 m/s±0.03 m/s、0.15 m/s±0.04 m/s; 正常组Ve、Va分别为0.19 m/s±0.02 m/s、0.17 m/s±0.02 m/s(P<0.05, P<0.01).

结论: 超声应变率成像可以更准确的评价肝硬化患者右心室的纵向收缩及舒张功能, 为临床医生的治疗及判断预后提供有力的证据.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 超声应变率成像; 肝硬化; 右心室功能

核心提示: 本文运用应变率成像技术测量肝硬化患者右心功能, 旨在探讨肝硬化患者右心功能变化情况及应变率成像在测量心功能方面的研究价值.

王洁, 顾鹏. 应变率成像对研究肝硬化患者右心室纵向功能的价值. 世界华人消化杂志 2013; 21(12): 1131-1135 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1131.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1131

0 引言

肝硬化(liver cirrhosis)是一种常见的慢性肝病, 可由于一种或多种原因引起肝脏进行性、弥漫性损害及纤维性变[1,2]. 肝硬化临床表现明显, 可发生多种并发症, 其中心血管并发症常导致患者预后较差. 早在五十多年前就有学者[3]证实肝硬化患者的心输出量(cardiac output)增强, 随后越来越多的研究和报道指出肝硬化患者存在心功能衰竭, 包括外周血管阻力下降、动脉血压下降、心脏收缩功能及舒张功能的降低, 这一系列的改变医学上叫做肝硬化性心肌病(cirrhotic cardiomyopathy, CCM)[4].目前对肝硬化左心功能的研究报道较多[5-7], 肝硬化患者右心功能到底有无改变, 目前报道很少. 随着超声新技术的快速发展, 越来越多的新技术应用于多种疾病的心功能检测中, 二维超声应变率反映了心肌发生变形的速度, 在评价心肌功能方面有显著的优势. 本研究主要讨论运用超声应变率成像评价肝硬化患者右心功能的纵向收缩功能.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2011-10/2012-08月川北医学院附属医院肝炎肝硬化患者62例(男47例, 女15例), 患者年龄24-78岁, 平均年龄50.80岁±1.73岁, 所有患者均符合2000-09西安会议《病毒性肝炎防治方案》(中华医学会传染病与寄生虫分会、肝病学分会联合修订)中肝硬化的诊断标准, 并同时排除器质性心脏病、糖尿病、高血压等疾病的患者. 选取排除了具有器质性心脏病的健康成人30例(男21例, 女9例), 年龄20-68岁, 平均年龄48.55岁±2.15岁作为正常对照组. 两组年龄差异无统计学意义.

1.2 方法 仪器使用GE公司vivid E9型彩色超声诊断仪, 凸阵探头M5S, 频率1.5-4.5 Hz, 帧频为40-90帧/s. 受试者平静呼吸, 常规连接心电图并采取左侧卧位采集心尖四腔心切面3个心动周期动态图并储存, 将图像转入Echo PAC工作站进行脱机分析. 工作站将右心室游离壁分为基底段、中间段及心尖段3个节段, 对室壁运动进行追踪分析. 启动组织多普勒, 并于心尖四腔心切面将取样容积置于三尖瓣前叶瓣环处, 在受试者呼气末三尖瓣前叶瓣环处运动频谱, 并测量舒张早期心肌运动速度(peak early diastolic velocity, Ve)及舒张晚期心肌运动速度(peak late diastolic velocity, Va).

统计学处理 采用SPSS17.0统计软件, 所得数据资料以mean±SD表示, 组间参数比较采用独立样本t检验, 以P<0.05表示差异具有统计学意义.

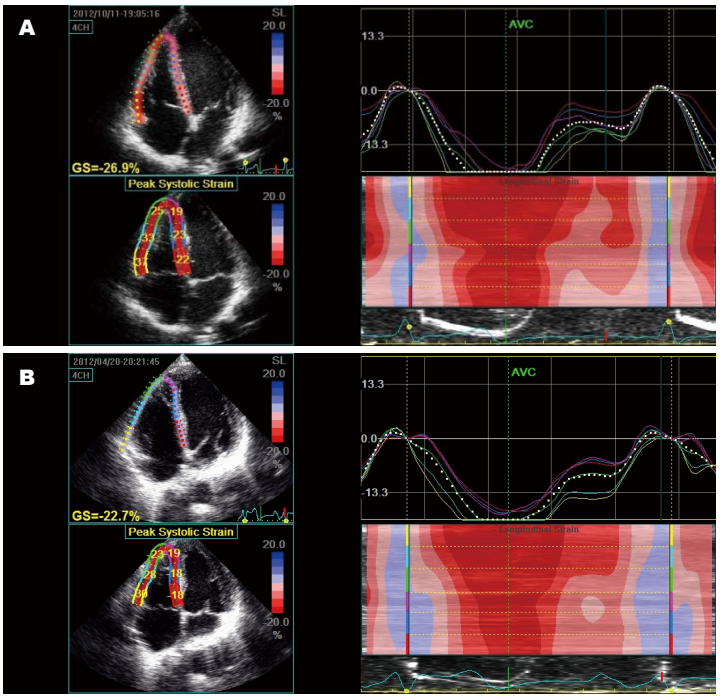


图 1 右心室应变率. A: 正常组右心室应变率; B: 肝硬化组右心室应变率.

■创新盘点

本文应用超声应变率测量右心功能, 克服了以往用于测量右心功能方法出现的角度依赖的缺陷, 因此更能准确的反映右心功能.

表 1 62例肝硬化患者与30例正常对照组右室游离壁应变率比较 (s^{-1})

分组	应变率		
	收缩期	舒张早期	房缩期
基底段			
肝硬化组	−1.93 ± 0.11[a]	2.17 ± 0.08[b]	1.43 ± 0.11[a]
正常组	−2.51 ± 0.88	2.37 ± 0.13	1.59 ± 0.04
中间段			
肝硬化组	−1.69 ± 0.56[a]	1.38 ± 0.38[a]	1.36 ± 0.88[a]
正常组	−1.97 ± 0.60	2.26 ± 0.70	1.49 ± 0.04
心尖段			
肝硬化组	−1.36 ± 0.31[b]	1.47 ± 0.05[a]	1.22 ± 0.05[a]
正常组	−2.37 ± 0.78	1.79 ± 0.12	1.37 ± 0.10

[a]P<0.05, [b]P<0.01 *vs* 正常组.

2 结果

肝硬化组右心室游离壁基底段SRS(图1B)低于正常组(图1A)(分别为: -1.93 s^{-1}±0.11 s^{-1}、-2.51 s^{-1}±0.88 s^{-1}, P<0.05), SRE低于正常组(分别为: 2.17 s^{-1}±0.08s^{-1}、2.37 s^{-1}±0.13 s^{-1}, P<0.0001), SRA低于正常组(分别为: 1.43 s^{-1}±0.11 s^{-1}、1.59 s^{-1}±0.04 s^{-1}, P<0.05).

肝硬化组右心室游离壁中间段SRS低于正常组(分别为: -1.69 s^{-1}±0.56 s^{-1}、-1.97 s^{-1}±0.60 s^{-1}, P<0.05), SRE低于正常组(分别为: 1.38 s^{-1}±0.38 s^{-1}、2.26 s^{-1}±0.70 s^{-1}, P<0.05), SRA低于正常组(分别为: 1.36 s^{-1}±0.88 s^{-1}、1.49 s^{-1}±0.04 s^{-1}, P<0.05).

肝硬化组心尖段SRS低于正常组(分别为: -1.36 s^{-1}±0.31 s^{-1}、-2.37 s^{-1}±0.78 s^{-1}, P<0.0001), SRE低于正常组(分别为: 1.47 s^{-1}±0.05 s^{-1}、1.79 s^{-1}±0.12 s^{-1}, P<0.05), SRA低于正常组(分别为: 1.22 s^{-1}±0.05 s^{-1}、1.37 s^{-1}±0.10 s^{-1}, P<0.05)(表1).

三尖瓣前叶瓣环处Ve及Va均低于正常组(肝硬化组Ve、Va分别为: 0.12 m/s±0.03 m/s、0.15 m/s±0.04 m/s; 正常组Ve、Va分别为: 0.19 m/s±0.02 m/s、0.17 m/s±0.02m/s, (P<0.05, P<0.01)(表2).

3 讨论

肝硬化患者心血管系统异常主要表现为高动力循环状态[8], 其发生主要与以下因素有关: (1)由

■应用要点
对于肝硬化患者, 可以应用超声应变率成像较早且准确的测量出其心功能, 为临床的治疗判断预后提供及时准确的信息.

表 2 62例肝硬化患者与30例正常对照组右室心肌运动速度比较 (mean ± SD, m/s)

分组	早期心肌运动速度	晚期心肌运动速度
肝硬化组	0.12 ± 0.03[a]	0.15 ± 0.04[b]
正常组	0.19 ± 0.02	0.17 ± 0.02

[a]P<0.05, [b]P<0.01 *vs* 正常组.

于肝脏功能障碍, 门静脉高压导致门-体分流, 从而使肝脏供血减少, 门静脉血量增多, 造成高动力循环状态; (2)肝硬化的高动力循环与钠水潴留及血浆容量增加有关; (3)近年来大量研究[9]表明, 很多扩血管活性物质如白介素等进入体循环, 激活诱导型一氧化氮合酶, 诱导心肌产生过多的一氧化氮, 也能造成肝硬化患者心脏收缩功能的障碍. 王爱鱼等[10]通过对96例无器质性心脏病的肝硬化患者进行解剖, 发现其中有39例患者心脏存在形态学改变, 心脏主要表现为心肌坏死、心室肥大等. 肝硬化患者若右心室功能降低, 将导致右房内压力增高, 使肝静脉回流受阻, 最终导致肝淤血, 从而加速肝硬化患者腹水等并发症的发生, 因此肝硬化患者的右心功能研究应受到高度重视, 所以本实验基于上述原因, 专门用超声应变率成像进行肝硬化患者的右心功能研究.

心室肌层纤维由环形心肌纤维及纵形心肌纤维组成, 而右心室主要以纵形方向的浅层螺旋状肌肉为主, 贯穿于心尖与右房室环之间, 在心室射血中起重要作用, 收缩期右室在浅层肌纤维牵拉下心底不移向心尖部并靠向室间隔, 同时在室间隔协同作用下把右心室的血液挤向肺循环[11,12], 因此测定右心室长轴功能更能代表右室的射血功能, 右室肌层纵向运动对于评价右室功能具有重要意义. 过去常用于评价局部心肌功能的主要是组织多普勒技术(tissue doppler imaging, TDI), Dini等[13]通过研究证明三尖瓣瓣环处心肌运动速度可以反映右心室的长轴心功能, 但其角度依赖性较大, 而SRI是近年发展迅速的超声新技术, 是在二维动态灰阶图像中选取感兴趣的室壁范围, 然后运用软件自动跟踪感兴趣区内的心肌组织信号, 从而计算出感兴趣区内心肌变形的程度[14,15], 其克服了组织多普勒的角度依赖的缺陷, 因此更能准确的映心肌的功能. 本实验通过对肝硬化患者右室游离壁3个节段的心肌纵向运动进行追踪, 得出以下结论: (1)肝硬化患者右心室收缩功能降低; (2)通过对应变率成像与TDI两种超声技术得出的统计学结果进行比较, 虽然TDI也能反映右心室长轴收缩功能, 但是SRI通过统计学方法得出的P值较TDI更小, 因此得出SRI较TDI能更好地反映右心室长轴的收缩功能.

总之, 超声应变率成像能较早较准确的评价肝硬化患者的右室心肌功能的变化, 为临床的治疗判断预后提供及时及准确的信息.

4 参考文献

1 Meluzín J, Spinarová L, Bakala J, Toman J, Krejcí J, Hude P, Kára T, Soucek M. Pulsed Doppler tissue imaging of the velocity of tricuspid annular systolic motion; a new, rapid, and non-invasive method of evaluating right ventricular systolic function. *Eur Heart J* 2001; 22: 340-348 [PMID: 11161953 DOI: 10.1053/euhj.2000.2296]
2 Pinzani M, Rosselli M, Zuckermann M. Liver cirrhosis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2011; 25: 281-290 [PMID: 21497745 DOI: 10.1016/j.bpg.2011.02.009]
3 Baik SK, Fouad TR, Lee SS. Cirrhotic cardiomyopathy. *Orphanet J Rare Dis* 2007; 2: 15 [PMID: 17389039 DOI: 10.1186/1750-1172-2-15]
4 Møller S, Hove JD, Dixen U, Bendtsen F. New insights into cirrhotic cardiomyopathy. *Int J Cardiol* 2012 Oct 4. *[Epub ahead of print]* [PMID: 23041091 DOI: 10.1016/j.ijcard.2012.09.089]
5 焦荣红, 刘欣, 于明月, 黄冬霞. 超声心动图技术评价肝硬化患者左心功能的研究. 现代中西医结合杂志 2012; 21: 74-75
6 Abd-El-Aziz TA, Abdou M, Fathy A, Wafaie M. Evaluation of cardiac function in patients with liver cirrhosis. *Intern Med* 2010; 49: 2547-2552 [PMID: 21139291 DOI: 10.2169/internalmedicine.49.3520]
7 Finucci G, Desideri A, Sacerdoti D, Bolognesi M, Merkel C, Angeli P, Gatta A. Left ventricular diastolic function in liver cirrhosis. *Scand J Gastroenterol* 1996; 31: 279-284 [PMID: 8833359 DOI: 10.3109/00365529609004879]
8 Liu H, Gaskari SA, Lee SS. Cardiac and vascular changes in cirrhosis: pathogenic mechanisms. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 837-842 [PMID: 16521209]
9 Alqahtani SA, Fouad TR, Lee SS. Cirrhotic cardiomyopathy. *Semin Liver Dis* 2008; 28: 59-69 [PMID: 18293277 DOI: 10.1055/s-2008-1040321]
10 王爱鱼, 侯培珍, 高军. 肝硬化所致心脏损害–附96例尸解分析. 中华消化杂志 1998; 18: 184
11 管丽洁, 高秋琦, 吴琪, 倪显达, 胡元平, 陈斌. 组织多普勒成像评价右心室收缩和舒张功能作用的研究进展. 中国全科医学 2010; 13: 1946-1949
12 Mertens LL, Friedberg MK. Imaging the right ventricle--current state of the art. *Nat Rev Cardiol* 2010; 7: 551-563 [PMID: 20697412 DOI: 10.1038/nrcardio.2010.118]
13 Dini FL, Galderisi M, Mondillo S, De Tommasi SM. [The right ventricle: role of Doppler echocardiography in clinical practice]. *Ital Heart J Suppl* 2004; 5: 757-769 [PMID: 15615347]
14 Artis NJ, Oxborough DL, Williams G, Pepper CB,

Tan LB. Two-dimensional strain imaging: a new echocardiographic advance with research and clinical applications. *Int J Cardiol* 2008; 123: 240-248

15 [PMID: 17477993 DOI: 10.1016/j.ijcard.2007.02.046]
杨颖, 陈峰, 张宝娓. 二维应变对左心室整体应变与应变率的研究. 中国医学影像技术 2006; 22: 1018-1020

编辑 田滢 电编 闫晋利

■同行评价
本文有一定科学性、创新性和可读性, 能反映我国该领域临床研究的水平, 具有一定指导意义.

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

• 消息 •

百世登出版集团推出12种开放获取生物医学期刊全部被PubMed和PMC收录

本刊讯 由美国国立医学图书馆(U.S. National Library of Medicine, 简称NLM), 美国国立生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, 简称NCBI))和美国国立卫生研究院(National Institutes of Health, 简称NIH), 共同于2010-2011年, 收录了百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group Co., Limited, 简称BPG)出版的12种开放获取生物医学期刊. 12种期刊被NLM, NCBI和NIH共同主办的PubMed Central和PubMed平台, 公开面向全球发布, 读者免费阅读和下载全文. 12种期刊被收录的名称及网址如下:

1 World Journal of Biological Chemistry (世界生物化学杂志)
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1495/

2 World Journal of Cardiology (世界心脏病学杂志)
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1320/

3 World Journal of Clinical Oncology (世界临床肿瘤学杂志)
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1494/

4 World Journal of Diabetes (世界糖尿病杂志)
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1498/

5 World Journal of Gastrointestinal Endoscopy (世界胃肠内镜杂志)
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1323/

6 World Journal of Gastrointestinal Oncology (世界胃肠肿瘤学杂志)
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1324/

7 World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology (世界胃肠病理生理学杂志)
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1496/

8 World Journal of Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics (世界胃肠药理学与治疗杂志)
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1497/

9 World Journal of Gastrointestinal Surgery (世界胃肠外科杂志)
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1325/

10 World Journal of Hepatology (世界肝病学杂志)
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1321/

11 World Journal of Radiology (世界放射学杂志)
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1322/

12 World Journal of Stem Cells (世界干细胞杂志)
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/1470/

(总编辑: 马连生2011-05-30)

世界华人消化杂志 2013年4月28日; 21(12): 1136-1139
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

悬吊辅助法腹腔镜阑尾切除术42例

郑向欣, 管小青, 吴 骥, 顾书成, 吴建强, 陈 焰, 张旭旭

■背景资料
阑尾炎是普外科常见的一类急腹症, 手术治疗为阑尾切除术. 以往我们对此类患者主要实施开腹阑尾切除术, 近年来随着腹腔镜外科的迅速发展, 腹腔镜阑尾切除术已成为阑尾炎患者常用的手术方案, 主要有三孔, 双孔及单孔等术式, 手术创伤较开腹手术减小, 恢复时间缩短, 被临床医生及患者所接受.

郑向欣, 管小青, 吴骥, 顾书成, 吴建强, 陈焰, 张旭旭, 南京鼓楼医院集团宿迁市人民医院普外科 江苏省宿迁市 223800
郑向欣, 主治医师, 主要从事普外科的临床及科研工作.
作者贡献分布: 此课题由郑向欣与管小青设计; 研究过程由郑向欣、管小青、吴骥、顾书成、吴建强、陈焰及张旭旭操作完成; 资料收集与数据分析由郑向欣、吴骥、顾书成及张旭旭完成; 本论文写作由郑向欣与管小青完成.
通讯作者: 管小青, 主任医师, 223800, 江苏省宿迁市黄河南路138号, 南京鼓楼医院集团宿迁市人民医院普外科.
guan_dr@163.com
电话: 0527-84239293
收稿日期: 2013-01-04 修回日期: 2013-02-28
接受日期: 2013-04-13 在线出版日期: 2013-04-28

Laparoscopic appendectomy using the hanging and fastening method: An analysis of 42 cases

Xiang-Xin Zheng, Xiao-Qing Guan, Ji Wu, Shu-Cheng Gu, Jian-Qiang Wu, Yan Chen, Xu-Xu Zhang

Xiang-Xin Zheng, Xiao-Qing Guan, Ji Wu, Shu-Cheng Gu, Jian-Qiang Wu, Yan Chen, Xu-Xu Zhang, Department of General Surgery, Suqian People's Hospital of Nanjing Drum-tower Hospital Group, Suqian 223800, Jiangsu Province, China
Correspondence to: Xiao-Qing Guan, Chief Physician, Department of General Surgery, Suqian People's Hospital of Nanjing Drum-tower Hospital Group, 138 Huanghe South Road, Suqian 223800, Jiangsu Province, China. guan_dr@163.com
Received: 2013-01-04 Revised: 2013-02-28
Accepted: 2013-04-13 Published online: 2013-04-28

Abstract
AIM: To explore the feasibility and advantages of the hanging and fastening method in laparoscopic appendectomy.

METHODS: Forty-two patients underwent laparoscopic appendectomy using the hanging and fastening method. An epidural puncture trocar with a thread was used to pierce the abdominal cavity. After tightening the thread and relatively fixing the appendix, appendectomy was performed.

RESULTS: The operation was successful in all 42 patients. The operative time was 30-90 min (mean, 50 min). Intraoperative blood loss was 5-50 mL (mean, 20 mL). The patients got out of bed 8 hours after operation. The gastrointestinal function recovered within 12-24 h (mean, 15 h). The hospital stay was 3-7 d (mean, 4 d). There were no major complications including incision infection, bleeding and intestinal obstruction. All patients were discharged.

CONCLUSION: Laparoscopic appendectomy using the hanging and fastening method is safe, feasible and simple, with little surgical trauma.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Appendicitis; Appendectomy; Laparoscopy; Hanging and fastening

Zheng XX, Guan XQ, Wu J, Gu SC, Wu JQ, Chen Y, Zhang XX. Laparoscopic appendectomy using the hanging and fastening method: An analysis of 42 cases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(12): 1136-1139 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1136.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1136

摘要
目的: 探讨悬吊辅助施行腹腔镜阑尾切除术的可行性与优点.

方法: 应用悬吊固定法, 实施腹腔镜阑尾切除术42例. 将带线硬膜外穿刺针自腹壁刺入腹腔内, 收紧腹腔外缝线, 使阑尾游离端相对固定, 然后行阑尾切除术.

结果: 42例患者均顺利完成手术, 手术时间30-90 min, 平均50 min, 术中出血5-50 mL, 平均20 mL, 术后8 h患者下床活动, 12-24 h恢复胃肠功能, 平均15 h, 住院3-7 d, 平均4 d, 无切口感染, 出血, 肠梗阻并发症出现, 所有患者痊愈出院.

结论: 悬吊固定法阑尾切除术安全、可行, 并且操作简单, 创伤小.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 阑尾炎; 阑尾切除术; 腹腔镜; 悬吊固定

■同行评议者
王刚, 副研究员, 哈尔滨医科大学附属第一医院胰胆外科(普外二科)

核心提示: 双孔悬吊辅助法腹腔镜阑尾切除术是在三孔基础上, 结合双孔及三孔的优点, 应用带线硬膜外穿刺针刺入腹腔, 悬吊固定阑尾, 予以实施阑尾切除术. 本方法中穿刺针的作用相当于三孔中的无损伤肠钳, 手术创伤小, 操作简单, 疤痕小, 适合在临床中推广.

郑向欣, 管小青, 吴骥, 顾书成, 吴建强, 陈焰, 张旭旭. 悬吊辅助法腹腔镜阑尾切除术42例. 世界华人消化杂志 2013; 21(12): 1136-1139 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1136.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1136

0 引言

近年来随着外科技术的快速发展及微创观念的进步, 腹部手术向经自然腔道内镜外科手术(natural orifice transluminal endoscopic surgery, NOTES)[1]转变的趋向已经显现. 腹腔镜阑尾切除术因其具有创伤小, 恢复快, 还可探查术前诊断不明的外科急腹症等优点[2], 现已成为外科医生和阑尾炎患者首选的术式. 目前我们在三孔腹腔镜阑尾切除术基础上对其做了一点改进, 采用悬吊辅助法对42例患者实施腹腔镜阑尾切除术, 取得了较好的疗效, 现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 本组42例患者中, 男27例, 女15例, 17-59岁, 平均31岁, 均无下腹部手术史, 其中急性单纯性阑尾炎9例, 急性化脓性阑尾炎17例, 急性坏疽性阑尾炎4例, 慢性阑尾炎急性发作12例. 急性发作时间8-96 h, 平均20 h. 主要临床表现为腹痛, 右下腹固定压痛, 全腹未触及包块, 伴有发热及恶心或呕吐症状, 血象增高, 腹部彩超排除泌尿系统, 子宫附件及阑尾周围脓肿及回盲部肿块等疾病, 部分病例彩超提示盆腔积液或阑尾区探及条索状包块. 全组病例无严重心肺疾患及凝血功能障碍, 所有切除标本均经病理确诊.

1.2 方法

1.2.1 手术: 术前准备一次性硬膜外麻醉穿刺包(穿刺针规格: 1.8 mm×80.0 mm), 取出穿刺针, 将0#慕丝线对折后穿过, 留作备用(图1). 所有患者术前禁食6 h, 排空膀胱, 不留置胃管及尿管. 手术均采用气管插管全身麻醉, 脐缘作1.0 cm皮肤切口, 穿刺10 mm Trocar, 建立CO_2气腹, 压力维持在12-15 mmHg, 置入10 mm Trocar为观察孔, 置入腹腔镜, 患者取头低脚高位, 手术台向左倾斜15-20度, 于脐与耻骨联合中点平行左侧腹直肌外缘置入10 mm Trocar, 作为操作孔, 放入无损伤肠钳进行全面探查, 吸出脓液或腹腔渗液, 找到阑尾, 分离其与周边的粘连, 于阑尾根部上方相应腹壁将带线硬膜外穿刺针穿入腹腔, 分离钳将阑尾放入线环后, 收紧丝线, 将阑尾提起, 此时阑尾已悬吊固定于穿刺针上, 可以前后左右调整方向, 用分离钳紧贴阑尾分离系膜, 病例中阑尾水肿较轻者, 于阑尾根部系膜侧用钛夹或锁扣夹结扎阑尾系膜及血管, 同样方法于阑尾根部双重结扎阑尾; 阑尾及系膜水肿明显者, 由操作孔引入0#慕丝线, 用腔内打结法, 分段结扎阑尾系膜, 双重结扎阑尾根部, 距结扎远端约0.5 cm剪断并电灼阑尾残端, 不做荷包缝合, 撤除悬吊线, 将阑尾放入橡胶手套中自10 mm Trocar取出. 探查腹腔无活动性出血, 无肠管损伤后, 释放气腹, 关闭切口. 术中可以根据阑尾周围炎症渗出情况, 决定是否放置引流管.

1.2.2 手术适应证及禁忌证: (1)适应证: 急性单纯性阑尾炎、慢性阑尾炎急性发作, 急性化脓性阑尾炎、急性坏疽性阑尾炎(头部及部分体部)和部分异位阑尾炎(阑尾可以直接提起者); (2)禁忌证: 严重心肺疾患及凝血功能障碍患者、下腹部手术者, 急性阑尾炎伴阑尾周围脓肿、急性坏疽穿孔性阑尾炎(根部及部分体部)、腹膜后位阑尾炎、浆膜下阑尾炎、部分异位阑尾炎(无法直接提起者)及回盲部肿瘤并阑尾炎.

2 结果

42例患者均顺利完成手术, 无中转开腹者, 手术时间30-90 min, 平均50 min, 术中出血5-50 mL, 平均20 mL, 术后8 h患者下床活动, 12-24 h恢复胃肠功能, 平均15 h, 住院3-7 d, 平均4 d, 全组无切口感染, 出血, 肠梗阻等并发症出现, 所有患者痊愈出院, 切口愈合良好, 美容效果好(图2, 3).

3 讨论

自1983年德国医师Semm首次报道腹腔镜阑尾切除术(laparoscopic appendectomy, LA)[3]以来, 因其具有损伤小、机体的应激反应轻、免疫抑制少、康复快、切口感染率低、住院时间短等优点[4-9], 现已成为治疗急慢性阑尾炎的常规手术[10,11].

随着LA手术方式的不断改进, 目前临床上出现了三孔, 双孔及单孔等术式[12-15]. 单孔术式操作空间相对较小, 器械易出现“筷子效应”, 手术难度相对较大, 基层医院应用相对较少, 而

■研发前沿

随着自然腔道内镜外科手术(natural orifice transluminal endoscopic surgery, NOTES)理论及“无痛无瘢痕”手术理念的提出, 腹腔镜阑尾切除术越来越受到临床医生及患者的认可, 其视野开阔, 利于探查, 手术创伤较小, 恢复快, 特别适合肥胖, 年轻女性及经常出差患者. 如何在不增加手术难度的基础上, 减少手术创伤, 增加美容效果, 已成为微创外科的一大热点.

■创新盘点

本文主要是在应用三孔腹腔镜阑尾切除术的基础上，采用带线麻醉穿刺针取代无损伤肠钳将阑尾提起，减少一戳孔，从而减少手术创伤，并未增加手术难度，手术效果较好.

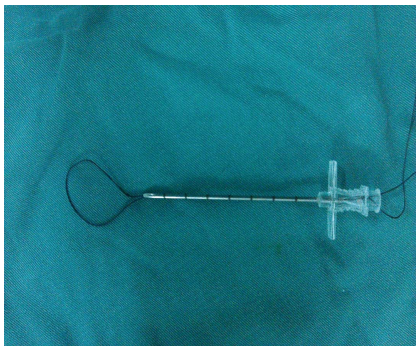


图 1 带线麻醉穿刺针.

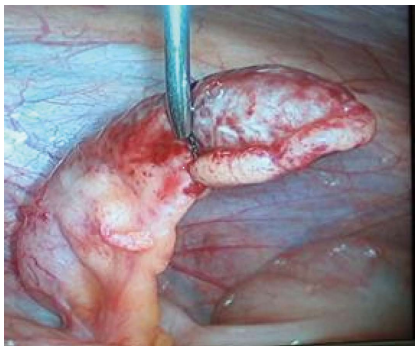


图 2 悬吊固定的阑尾.



图 3 术后第2天腹部切口.

三孔及双孔术式视野开阔, 操作相对简单, 大部分临床医生常采用这两类术式. 本研究对三孔术式做了一点改进, 结合双孔法和三孔法的优点[16], 采用双孔悬吊术式行阑尾切除术, 即将带线的硬膜外麻醉穿刺针于阑尾根部体表投影区穿入腹腔, 将阑尾提起, 这样既可以将阑尾悬吊固定, 进一步探查阑尾及周围组织情况, 又减少了一个戳孔, 使得操作简单, 创伤小, 恢复快, 切口感染发生率低, 而且该方法技术难度较小, 比单孔法更简单, 费用相对较低, 也利于术者操作, 适合在基层医院应用.

临床中大部分阑尾炎患者就诊时, 病情都相对较重, 术中我们探查发现阑尾大都已充血水肿或化脓, 有的甚至出现坏疽, 部分阑尾呈扭曲状, 大网膜下移包裹阑尾. 因此, 充分显露阑尾是手术当中至关重要的一环. 之前我们在实施三孔LA时, 应用无损伤肠钳提起阑尾, 来显露阑尾及周围组织情况, 然后行阑尾切除术. 在此基础上我们思考在不增加手术难度的前提下, 能否减少一戳孔来完成手术, 从而减少手术创伤. 有文献报道[17]应用悬吊线将阑尾固定于腹壁行阑尾切除术能达到这一效果, 但我们发现该术式只能通过牵拉调整阑尾高低, 不能前后左右调整方向, 不利于阑尾及系膜的处理. 本文我们通过悬吊, 将阑尾提起, 同时将阑尾固定在穿刺针上, 这样既可以将阑尾显露明显, 又可以四周调整方向, 利于阑尾及其系膜的处理, 达到了我们预想的效果. 术中我们分离好阑尾系膜后, 将丝线自操作孔引入, 左手拽住线尾, 右手持针器行腔内打结, 结扎切断系膜, 同法处理阑尾; 而对于阑尾炎症较轻者, 我们可以应用钛夹或锁扣夹直接结扎切断. 该术式中我们应用的带线穿刺针相当于三孔操作时的无损伤肠钳, 从而扩大了手术适应证, 简化了手术操作, 缩短了手术时间, 同时减少了一戳孔, 使得手术创伤相应减小; 整个手术我们均可在一把器械下完成, 也避免了“筷子效应”. 本文采用的这一方法手术创伤有所减小, 我们发现患者术后脐部切口不明显, 只有左下腹一小切口, 美容效果好, 而且手术费用也相对减少, 具有可行性, 值得临床推广.

值得注意的是, 对于临床中遇到的如根部坏疽穿孔性阑尾炎或阑尾炎伴阑尾周围脓肿等病情较重者, 我们应及时增加戳孔或中转开腹, 避免肠瘘等并发症的发生; 如果术中直视下探查未发现阑尾, 应考虑腹膜后位阑尾, 浆膜下阑尾, 异位阑尾及阑尾缺如, 盲肠根部炎症等可能, 若异位阑尾能直接提起, 可以应用悬吊法实施手术, 其他病例我们也应及时增加戳孔或中转开腹; 如果术中探查伴有回盲部或升结肠肿瘤, 无腹腔广泛转移者, 我们将在腹腔镜下行右半结肠切除术; 若伴有降结肠肿瘤, 我们将同时予以行左半结肠切除, 同期行横结肠造瘘. 因此, 我们在实施手术时, 一定要严格遵照适应证, 充分探查腹腔, 不能一味为了追求微创手术, 而忽略了手术禁忌证及并发症, 必要时及时中转开腹或扩大手术, 这样才能显示出LA应有的应用价值.

4 参考文献

1 Palanivelu C, Rajan PS, Rangarajan M, Parthasarathi

R, Senthilnathan P, Prasad M. Transvaginal endoscopic appendectomy in humans: a unique approach to NOTES--world's first report. *Surg Endosc* 2008; 22: 1343-1347 [PMID: 18347865]
2 Milewczyk M, Michalik M, Ciesielski M. A prospective, randomized, unicenter study comparing laparoscopic and open treatments of acute appendicitis. *Surg Endosc* 2003; 17: 1023-1028 [PMID: 12728377]
3 Semm K. Endoscopic appendectomy. *Endoscopy* 1983; 15: 59-64 [PMID: 6221925]
4 Shaikh AR, Sangrasi AK, Shaikh GA. Clinical outcomes of laparoscopic versus open appendectomy. *JSLS* 2009; 13: 574-580 [PMID: 20202400]
5 任培土, 沈志宏. 腹腔镜阑尾切除术的适应证探讨. 腹腔镜外科杂志 2010; 15: 146-148
6 覃兴尤, 李智勇, 陈卫民, 丁虹. 慢性阑尾炎腹腔镜与开腹手术切除阑尾对机体免疫功能影响的比较. 中国内镜杂志 2008; 14: 539-541
7 李鹏, 郭正团, 徐泉, 张宪生, 高亚, 纪宗正. 小儿腹腔镜阑尾切除术与传统阑尾切除术创伤反应的对比研究. 中华普通外科杂志 2005; 20: 589-590
8 Esposito C, Borzi P, Valla JS, Mekki M, Nouri A, Becmeur F, Allal H, Settimi A, Shier F, Sabin MG, Mastroianni L. Laparoscopic versus open appendectomy in children: a retrospective comparative study of 2,332 cases. *World J Surg* 2007; 31: 750-755 [PMID: 17361358 DOI: 10.1007/s00268-006-0699-8]
9 王宇鹏, 吴晔明. 腹腔镜治疗儿童阑尾炎的系统评价. 中华小儿外科杂志 2008; 29: 317-320
10 巫文岗, 李夏鲁, 莫启章. 阑尾炎腹腔镜阑尾切除术126例的临床分析. 微创医学 2009; 4: 68-69
11 Caravaggio C, Hauters P, Malvaux P, Landenne J, Janssen P. Is laparoscopic appendectomy an effective procedure? *Acta Chir Belg* 2007; 107: 368-372 [PMID: 17966527]
12 Visnjic S. Transumbilical laparoscopically assisted appendectomy in children: high-tech low-budget surgery. *Surg Endosc* 2008; 22: 1667-1671 [PMID: 18074182 DOI: 10.1007/s00464-007-9680-3]
13 骆元国. 腹腔镜阑尾切除术68例体会. 微创医学 2012; 7: 310-311
14 姜万里, 孙良, 李云. 经脐单孔腹腔镜阑尾切除术的临床应用. 腹腔镜外科杂志 2012; 17: 513-515
15 刘从礼. 两孔法腹腔镜阑尾切除术50例报告. 腹腔镜外科杂志 2012; 17: 614-615
16 凌幸发, 曾锋. 腹腔镜阑尾切除术的临床分析(附109例报道). 中国普外基础与临床杂志 2009; 16: 319-320
17 罗蓬, 张庭澍, 李利波, 曹云, 陈建民, 程化. 阑尾腹壁悬吊在腹腔镜阑尾切除术中的应用. 中国微创外科杂志 2007; 7: 370-371

编辑 李军亮 电编 闫晋利

■同行评价

本文对42例急性阑尾炎患者进行了悬吊辅助法腹腔镜阑尾切除术, 该法安全、可行, 并且操作简单, 创伤小, 具有一定的临床应用价值.

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

世界华人消化杂志 2013年4月28日; 21(12): 1140-1145
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

巨噬细胞移动抑制因子_173G/C基因多态性与炎性肠疾病的Meta分析

谭诗云, 吴鹏波, 张 国, 罗和生, 姚文敏

■背景资料
炎性肠疾病(inflammatory bowel disease, IBD)是常见的慢性胃肠道非特异性炎性疾病, 目前对于IBD的病因和发病机制尚未完全明了, 其发生可能与精神心理因素、感染、免疫异常、等多种因素有关. 巨噬细胞移动抑制因子(migration inhibitory factor, MIF)的功能基因多态性可以通过影响其表达高低调节宿主炎性反应强弱及炎症转归结果, 最终改变其罹患IBD的风险.

谭诗云, 吴鹏波, 罗和生, 武汉大学人民医院消化内科 湖北省武汉市 430060
张国, 姚文敏, 广西壮族自治区人民医院消化内科 广西壮族自治区南宁市 530021
谭诗云, 教授, 主任医师, 博士生导师, 主要从事消化内科方面的研究.
作者贡献分布: 此课题由谭诗云与张国策划设计; 吴鹏波与姚文敏负责资料收集、分析研究; 数据分析由吴鹏波完成; 本论文写作由吴鹏波与谭诗云完成; 罗和生与张国审阅.
通讯作者: 张国, 教授, 主任医师, 530021, 广西壮族自治区南宁市桃源路6号, 广西壮族自治区人民医院消化内科.
zhangguogx@hotmail.com
电话: 0771-2186184
收稿日期: 2012-11-03 修回日期: 2012-12-20
接受日期: 2013-04-01 在线出版日期: 2013-04-28

Association between macrophage migration inhibitory factor _173G/C polymorphism and inflammatory bowel disease: A meta-analysis

Shi-Yun Tan, Peng-Bo Wu, Guo Zhang, He-Sheng Luo, Wen-Min Yao

Shi-Yun Tan, Peng-Bo Wu, He-Sheng Luo, Department of Gastroenterology, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei Province, China
Guo Zhang, Wen-Min Yao, Department of Gastroenterology, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Correspondence to: Guo Zhang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. zhangguogx@hotmail.com
Received: 2012-11-03 Revised: 2012-12-20
Accepted: 2013-04-01 Published online: 2013-04-28

Abstract

AIM: To explore the association between macrophage migration inhibitory factor (MIF) -173G/C polymorphism and susceptibility to inflammatory bowel disease.

METHODS: Searches of electronic databases CBM, CNKI, PubMed and EMbase were performed to retrieve published case-control studies investigating the association between *MIF* -173G/C polymorphism and susceptibility to ulcerative colitis (UC) or Crohn's disease (CD). The pooled odds ratios (ORs) with 95% confidence intervals (95%CIs) were calculated using fixed-effect or random-effect methods based on the absence or presence of significant heterogeneity. Publication bias was assessed. All statistical analyses were conducted with STATA10.0 software.

RESULTS: Increased risk of UC was associated with *MIF* -173G/C polymorphism in the dominant genetic model (GG/C + C/C *vs* G/G: OR = 1.15, 95%CI: 1.00-1.32), the homozygote comparison (C/C *vs* G/G: OR = 1.54, 95%CI: 1.08-2.19) and recessive model (C/C *vs* G/C + G/G: OR = 1.52, 95%CI: 1.07-2.17). However, no association was found between *MIF* -173G/C polymorphism and susceptibility to CD.

CONCLUSION: Our meta-analysis strongly suggests that *MIF* -173G/C polymorphism is associated with susceptibility to UC. However, current studies do not support a direct relationship between *MIF* -173G/C polymorphism and susceptibility to CD.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Macrophage migration inhibitory factor; 173G/C; Polymorphism; Inflammatory bowel disease; Meta-analysis

Tan SY, Wu PB, Zhang G, Luo HS, Yao WM. Association between macrophage migration inhibitory factor -173G/C polymorphism and inflammatory bowel disease: A meta-analysis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(12): 1140-1145 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1140.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1140

摘要

目的: 探讨巨噬细胞移动抑制因子(macrophage migration inhibitory factor, *MIF*)_173G/C基因多态性与炎性肠疾病(inflammatory bowel disease, IBD)易感性的关系.

■同行评议者
万军, 教授, 中国人民解放军总医院南楼老年消化科

方法: 计算机检索CBM、CNKI、PubMed和EMbase数据库, 收集关于*MIF*_173G/C基因多态性与溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)或克罗恩病(Crohn's disease, CD)的易感性病例-对照研究研究, 以IBD组与对照组人群基因型分布的比值比(odds ratio, OR)及95%CI可信区间(confidence interval, 95%CI)其为效应指标, 采用固定或随机效应模型进行合并分析, 并进行偏倚评估. 应用STATA10.0软件进行统计学处.

结果: 纯合子比较模型, 显性遗传模型, 隐性遗传模型Meta分析表明*MIF*_173G/C基因多态性与UC易感性有统计学意义(C/C *vs* G/G: OR = 1.54, 95%CI: 1.08-2.19; 显性遗传模型: OR = 1.15, 95%CI: 1.00-1.32; 隐性遗传模型: OR = 1.52, 95%CI: 1.07-2.17); 各遗传模型Meta分析结果显示: *MIF*_173G/C基因多态性与CD的易感性无统计学意义.

结论: 基于目前研究结果显示, *MIF*_173G/C可能是UC的易感性基因, 但与CD无明显相关性. 受纳入研究质量和数量限制, 上述结论尚待开展更多高质量的前瞻性研究进一步验证.

© 2013年版权归Baishideng所有.

核心提示: 目前关于巨噬细胞移动抑制因子(macrophage migration inhibitory factor, *MIF*)_173G/C基因多态性与炎性肠疾病关联性结论不一, 本文通过Meta分析显示: *MIF*_173G/C可能是溃疡性结肠炎(ulcerative colitis)的易感性基因, 但与克罗恩病(Crohn's disease)无明显相关性.

关键词: 巨噬细胞移动抑制因子; 173G/C; 基因多态性; 炎性肠疾病; Meta分析

谭诗云, 吴鹏波, 张国, 罗和生, 姚文敏. 巨噬细胞移动抑制因子_173G/C基因多态性与炎性肠疾病的Meta分析. 世界华人消化杂志 2013; 21(12): 1140-1145 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1140.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1140

0 引言

炎性肠疾病(inflammatory bowel disease, IBD)是一类肠道非特异性慢性炎症疾病, 包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD). 据报道, UC世界每年发生率为1.85/100 000, CD发生率为0.70/100 000[1]. 然而, IBD的发病机制尚不清楚, 但一致认为其发病与环境、遗传、微生物、免疫等因素有关. IBD的家族聚集现象和发病的种族差异性提示遗传因素在IBD的发生发展过程中起着不容忽视的作用. 近年来, 已有大量有关单核苷酸多态性和IBD发生风险之间关系的研究也证实这一观点[2-4].

巨噬细胞移动抑制因子(macrophage migration inhibitory factor, MIF)是巨噬细胞自分泌的一种重促炎因子, 他能够抑制巨噬细胞的游走, 促使巨噬细胞在炎症部位浸润、聚集, 在细胞介导的免疫反应中发挥重要作用[5]. 基于MIF与免疫及炎症密切相关, 并可能成为治疗炎性疾病的潜在靶点, 国内外学者对*MIF*基因多态性与IBD易感性的关系进行了大量的研究. MIF编码基因位于人类染色体22q11.2, 目前已发现他在_173G/C、+254T/C、+656C/G处存在多态位点, 其中以*MIF*_173G/C多态性与IBD的关系最为紧密. 目前, 单个研究样本量小和地区差异, 导致各研究结论不一. 为解决这些分歧, 我们对已发表的相关研究进行Meta分析, 以明确*MIF*_ 173G/C多态性与IBD风险的相关性.

■相关报道
我国学者张启芳报道MIF参与溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)的发病机制, 可能是UC活动的指标, 控制MIF的产生可能有治疗的作用.

1 材料和方法

1.1 材料: 计算机检索EMbase、PubMed、CBM和CNKI, 检索时间均为1990/2012-10. 英文检索式: “Inflammatory bowel disease OR ulcerative colitis OR Crohn's disease OR IBD” AND “mutation OR variant OR polymorphism” AND “MIF OR macrophage migration inhibitory”; 中文检索式: “巨噬细胞移动抑制因子或MIF” 和 “基因多态性或突变” 和 “CD OR UC或炎症性肠病”. 所有研究的研究对象限人类, 文种限中、英文, 同时追溯所获文献的参考文献以及手工检索相关杂志.

1.2 方法

1.2.1 纳入标准: (1)涉及*MIF*_ 173G/C多态性与CD或者UC相关性的文献; (2)公开发表的病例对照研究或巢式病例对照研究; (3)全文发表; (4)文献中数据完整, 能直接或间接提供统计指标比值比(odds ratio, OR)及95%CI可信区间(confidence interval, 95%CI); (5)病例均为经确诊CD或者UC患者, 其诊断符合符合文诊断标准, 或者临床表现、影像学、病理检查以及内镜联合诊断[6,7].

1.2.2 排除标准: (1)研究未设立对照组; (2)具体数据描述不清; (3)重复报道; (4)克罗恩病或者UC相关的综述以及动物实验.

1.2.3 资料提取: 由2位评价者独立根据纳入标准, 对文献进行筛选, 通过讨论达成一致. 两位评阅人独立完成对原始文献记录数据的收集.

■创新盘点

近年来, 有大量关于*MIF*_173G/C基因多态性与IBD患者易感性的关系的研究, 但结论不一致, 所以本文就此进行研究, 分析*MIF*_173G/C基因多态性与IBD易感性的关系.

表 1 纳入研究的一般情况以及基因型分布

作者	地区	病种	发表年份	病例组			对照组			NOS评分	P_{H-W}
				TT	TC	CC	TT	TC	CC		
Nohara等[19]	Japan	UC	2004	10	76	135	14	96	202	8	0.55
Oliver等[20]	Italy	UC	2007	22	171	441	18	188	681	5	0.24
Griga等[16]	Germany	UC	2007	2	28	72	15	156	318	8	0.43
Fei等[15]	China	UC	2008	13	27	44	8	55	79	8	0.70
Shiroeda等[14]	Japan	UC	2010	5	37	69	7	76	126	8	0.27
Przybyłowska等[13]	Spain	UC	2011	1	19	38	1	23	99	6	0.79
Sivaram等[12]	India	UC	2011	12	30	97	9	39	128	7	0.02
Oliver等[20]	Italy	CD	2007	23	172	466	18	188	681	5	0.24
Dambacher等[17]	Germany	CD	2007	7	45	146	6	45	108	7	0.63
N ú ñez等[18]	Spain	CD	2007	10	149	372	18	188	681	6	0.24
Griga等[16]	Germany	CD	2007	2	39	116	15	156	318	8	0.43
Fei等[15]	China	CD	2008	2	5	8	8	55	79	8	0.70
Przybyłowska等[13]	Spain	CD	2011	1	12	28	1	23	99	6	0.79

P_{H-W}: H-W平衡*P*值; UC: 溃疡性结肠炎; CD: 克罗恩病.

对检出的文献提取以下一般信息: 第一作者姓名、出版年份、国家、病例组对照组基因型分布及其频率、对照组是否符合H-W平衡(P<0.05认为不符合H-W平衡).

1.2.4 质量评价: 采用NOS(newcastle-ottawa scale)标准[8]评价纳入各个研究的质量. 该评分系统采取星级对3部分进行评价: (1)病例组和对照组研究对象选择; (2)病例组和对照组研究对象的可比性; (3)危险因素的暴露情况. 得分≥7分的研究为高质量.

统计学处理 合并效应量选用OR及其95%CI. OR值的计算分别根据纯合子比较模型C/C *vs* G/G、杂合子比较模型G/C *vs* G/G、显性遗传模型(GC+CC *vs* GG)和隐性遗传模型(CC *vs* GC+GG). 对纳入研究进行异质性检验, 各研究结果间无异质性采用固定效应模型进行合并分析, 否则采用随机效应模型进行合并分析. 各研究结果间的异质性检验采用Q检验和P统计量, P<0.1提示各研究间存在异质性, I^2用来衡量异质性大小程度[9]. 敏感性分析为依次排除单个文献后重新进行Meta分析, 通过相关图片评估其对综合效应量的影响. 发表偏倚通过Egger回归法[10]、Begg秩相关法[11]进行量化检测, P<0.05认为存在发表倚通. 上述分析以及H-W平衡均运用Stata11.0软件完成分析.

2 结果

2.1 文献检索结果 根据检索策略, 初检出41篇文献, 其中中文4篇, 英文37篇. 通过初步阅读文题和摘要, 排除26篇不符合纳入标准的文献经初步筛查. 进一步阅读全文, 1篇中文文献重复报道, 5篇文献涉及动物研究. 最终纳入9篇文献[12-20], 且Oliver等[20]一项研究中涉及到两组研究. 在纳入的9篇文献中分别有6、7篇文献涉及到*MIF*-173G/C多态性与CD、UC易感性研究. 9篇文献中Sivaram[12]对照组不遵守H-W平衡, 考虑做敏感性分析, 该项研究不予以剔除. 纳入的研究时间分布2004-2011年, 研究人群主要分布亚洲、欧洲. 各个纳入研究的基本特征见表1.

2.2 Meta分析结果 Meta分析的结果如表1所示, NOS评分结果显示平均得分为7(5-8分), 提示纳入的研究质量较好. *MIF*_173G/C基因多态性与UC易感性关系Meta分析结果除杂合子比较模型外其他模型均有统计学意义(杂合子比较模型: OR = 1.22, 95%CI: 0.82-1.82; 纯合子比较模型: OR = 1.54, 95%CI: 1.08-2.19; 显性遗传模型: OR = 1.15, 95%CI: 1.00-1.32; 隐性遗传模型: OR = 1.52, 95%CI: 1.07-2.17); *MIF*_173G/C基因多态性与CD易感性关系Meta分析结果显示个遗传模型均无统计学意义(杂合子比较模型: OR = 1.15, 95%CI : 0.99-1.32 ; 纯合子比较模型: OR = 1.22, 95%CI: 0.82-1.82; 显性遗传模型: OR = 1.09, 95%CI: 0.88-1.36; 隐性遗传模型: OR = 1.19, 95%CI: 0.80-1.77; 表2)

2.3 发表偏倚分析 如表2所示, 在CD和UC病例组, 不论何种遗传模型比较Egger回归法、Begg

表 2 巨噬细胞移动抑制因子_173G/C基因多态性与炎性肠疾病的Meta分析

病种	基因模型	关联性及检验			异质性检验		发表偏倚检验	
		OR (95%CI)	*Z*值	*P*值	I^2%	P_{het}	$P_{Begg's}$	$P_{Egger's}$
溃疡性结肠炎								
	CC *vs* GG	1.54 [1.08,2.19]	2.73	0.02	0	0.70	0.76	0.59
	GC *vs* GG	1.13 [1.07, 1.31]	1.59	0.04	0	0.45	1.00	0.41
	GC+CC *vs* GG	1.15 [1.00, 1.32]	1.99	0.04	0	0.46	1.00	0.52
	CC *vs* GC+GG	1.52 [1.07, 2.17]	2.34	0.02	0	0.66	0.76	0.66
克罗恩病								
	CC *vs* GG	1.22 [0.82,1.82]	0.96	0.34	9.6	0.36	1.00	0.75
	GC *vs* GG	1.15 [0.99, 1.32]	1.87	0.06	44.3	0.11	0.71	0.45
	GC+CC *vs* GG	1.09 [0.88, 1.36]	0.80	0.42	48.2	0.09	0.71	0.62
	CC *vs* GC+GG	1.19 [0.80, 1.77]	0.84	0.40	0	0.43	1.00	0.85

P_{het}: Meta分析纳入研究的异质性检验*P*值; $P_{Begg's}$: 论文发表偏倚Begg秩相关法*P*值; $P_{Egger's}$: 论文发表偏倚Egger回归法*P*值.

■应用要点
相同的基因位点, 不同的研究结论可能与样本量大小、环境因素及种族遗传变异有关. 本文将*MIF*_173G/C位点与IBD的功能基因多态性文章进行荟萃分析, 为以后科研和临床研究提供一定的思路.

秩相关法检验发表偏倚显示均*P*>0.05, 提示无发表偏倚存在(表2).

2.4 敏感性分析 依次单独剔除1篇文献后, 在UC病例组, 纯合子比较模型分析时剔除研究[12-14,16,19], 杂合子比较模型分析时剔除研究[14-16], 显性遗传模型分析剔除研究[12,13,15,19,20], 隐形遗传剔除研究[12-15,20]时总效应量出现改变. 在CD病例组, 杂合子比较模型分析时剔除研究[15-17], 显性遗传模型分析剔除研究[16,17]时总效应量出现改变.

3 讨论

MIF蛋白是一种相对分子质量为12.5 kDa非糖基化蛋白, 他由114个氨基酸残基组成的. 他参与免疫、炎症、机体感染等众多的生理功能的调节[21-23], 在各种炎性疾病中的促炎作用得到得到广泛的重视[24,25]. 其促炎作用可能机制是MIF可以拮抗机体内糖皮质激素诱导的I-κB产生, 减弱核因子(nuclear factor κB, NF-κB)和I-κB复合物对靶基因NF-κB转录活性的抑制作用, 最终使炎性细胞因子基因表达的重要调节因子NF-κB表达增加[26,27].

众所周知, IBD的发病是由于肠道黏膜内环境紊乱导致促进和抑制炎症反应二者失衡造成的. 鉴于MIF在机体炎症过程中的扮演着重要角色, MI在IBD的发生和发展的作用得到前所未有的重视. Ohkawara等[28]学者发现在正常大鼠结肠的上皮细胞有微量的MIF的表达, 且硫酸葡聚糖钠诱导的结肠炎中MIF表达量明显增加. Murakami[29]发现UC患者血清中的MIF水平明显高于正常对照组, 且与病情活动性有关, 而克隆病患者血清MIF水平与正常对照组没有明显差异. 我国学者张启芳[30]发现UC患者体内MIF较克罗恩患者明显上升.

MIF-173G/C多态性可通过影响机体内MIF水平的高低影响疾病的易感性[31,32], 本文结果分析显示*MIF*_173G/C多态性与UC发病风险明显相关, 但与CD发病风险无明显相关. 造成这种差异可能与二种疾病发病机制不同有关. 本研究虽然设计了科学研究方案, 本次分析仍存在一定的局限性, 其原因如下: (1)本Meta分析只检索了国内外几个代表性数据库, 检索语言仅为中文和英文, 且只限于公开发表的文献, 影响了纳入研究的全面性; (2)纳入研究的人群分布限于亚洲、欧洲, 未根据遗传背景做亚组分析; (3)饮食和社会环境是影响肠道疾病的易感性的重要因素, 本文纳入病例-健康对照组的研究往往忽略上述因素.

Meta分析能够将研究目的相同的多个病例一对照研究结果进行定量合并分析和综合评价, 以提高统计检验功效, 解决研究结果不一致的问题, 他克服了单个研究样本量小、地区局限的不足[33]. 敏感性分析是Meta分析结果质量衡量的一个重要手段[34], 常见的影响Meta分析结果稳定性的原因是各个纳入研究的样本量大小不一, 大样本研究对Meta分析结果影响较大, 小样本研究对Meta分析影响较小. 在这种情况下进行Meta分析其结果很容易向大样本研究结论偏倚. 本文通过敏感性分析发现多数基因模型Meta分析结果不稳定. 因而, 对于其结果我们应当甚至慎重对待.

总之, *MIF*_173G/C可能是UC的易感性基因, 但与CD无明显相关性. 然而, 受研究数量所限, 仍需开展更多高质量、大样本、包括不同

■同行评价
本文选题较为新颖，纳入的文献质量较高，统计学方法选择正确，讨论合理，结论客观，具有一定的代表性和临床应用价值.

种族群体的针对*MIF*_173G/C多态性和CD易感性之间关系的研究以进一步验证173G/C多态性与CD易感性的关系.

4 参考文献

1 Edwards CN, Griffith SG, Hennis AJ, Hambleton IR. Inflammatory bowel disease: incidence, prevalence, and disease characteristics in Barbados, West Indies. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 1419-1424 [PMID: 18484668 DOI: 10.1002/ibd.20495]

2 Wang Z, Hu J, Fan R, Zhou J, Zhong J. Association between CD14 gene C-260T polymorphism and inflammatory bowel disease: a meta-analysis. *PLoS One* 2012; 7: e45144 [PMID: 23049772 DOI: 10.1371/journal.pone.0045144]

3 Zhang ZF, Yang N, Zhao G, Zhu L, Wang LX. Association between the Pro12Ala polymorphism of peroxisome proliferator-activated receptor gamma 2 and inflammatory bowel disease: a meta-analysis. *PLoS One* 2012; 7: e30551 [PMID: 22276212 DOI: 10.1371/journal.pone.0030551]

4 Latiano A, Palmieri O, Latiano T, Corritore G, Bossa F, Martino G, Biscaglia G, Scimeca D, Valvano MR, Pastore M, Marseglia A, D'Incà R, Andriulli A, Annese V. Investigation of multiple susceptibility loci for inflammatory bowel disease in an Italian cohort of patients. *PLoS One* 2011; 6: e22688 [PMID: 21818367 10.1371/journal.pone.0022688]

5 Metz CN, Bucala R. Role of macrophage migration inhibitory factor in the regulation of the immune response. *Adv Immunol* 1997; 66: 197-223 [PMID: 9328642 DOI: 10.1016/S0065-2776(08)60598-2]

6 Podolsky DK. Inflammatory bowel disease (2). *N Engl J Med* 1991; 325: 1008-1016 [PMID: 1886623 DOI: 10.1056/NEJM199110033251406]

7 Lennard-Jones JE. Classification of inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1989; 170: 2-6; discussion 16-19 [PMID: 2617184 DOI: 10.3109/00365528909091339]

8 Stang A. Critical evaluation of the Newcastle-Ottawa scale for the assessment of the quality of nonrandomized studies in meta-analyses. *Eur J Epidemiol* 2010; 25: 603-605 [PMID: 20652370 DOI: 10.1007/s10654-010-9491-z]

9 Higgins JP, Thompson SG, Deeks JJ, Altman DG. Measuring inconsistency in meta-analyses. *BMJ* 2003; 327: 557-560 [PMID: 12958120 DOI: 10.1136/bmj.327.7414.557]

10 Begg CB, Mazumdar M. Operating characteristics of a rank correlation test for publication bias. *Biometrics* 1994; 50: 1088-1101 [PMID: 7786990 DOI: 10.2307/2533446]

11 Egger M, Davey Smith G, Schneider M, Minder C. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. *BMJ* 1997; 315: 629-634 [PMID: 9310563 DOI: 10.1136/bmj.315.7109.629]

12 Sivaram G, Tiwari SK, Bardia A, Anjum F, Vishnupriya S, Habeeb A, Khan AA. Macrophage migration inhibitory factor, Toll-like receptor 4, and CD14 polymorphisms with altered expression levels in patients with ulcerative colitis. *Hum Immunol* 2012; 73: 201-205 [PMID: 22192785 DOI: 10.1016/j.humimm.2011.12.006]

13 Przybyłowska K, Mrowicki J, Sygut A, Narbutt P, Dziki Ł, Dziki A, Majsterek I. Contribution of the -173 G/C polymorphism of macrophage migration inhibitory factor gene to the risk of inflammatory bowel diseases. *Pol Przegl Chir* 2011; 83: 76-80 [PMID: 22166284 DOI: 10.2478/v10035-011-0012-x]

14 Shiroeda H, Tahara T, Nakamura M, Shibata T, Nomura T, Yamada H, Hayashi R, Saito T, Yamada M, Fukuyama T, Otsuka T, Yano H, Ozaki K, Tsuchishima M, Tsutsumi M, Arisawa T. Association between functional promoter polymorphisms of macrophage migration inhibitory factor (MIF) gene and ulcerative colitis in Japan. *Cytokine* 2010; 51: 173-177 [PMID: 20621719 DOI: 10.1016/j.cyto.2010.05.003]

15 Fei BY, Lv HX, Yang JM, Ye ZY. Association of MIF-173 gene polymorphism with inflammatory bowel disease in Chinese Han population. *Cytokine* 2008; 41: 44-47 [PMID: 18054247 DOI: 10.1016/j.cyto.2007.10.010]

16 Griga T, Wilkens C, Wirkus N, Epplen J, Schmiegel W, Klein W. A polymorphism in the macrophage migration inhibitory factor gene is involved in the genetic predisposition of Crohn's disease and associated with cumulative steroid doses. *Hepatogastroenterology* 2007; 54: 784-786 [PMID: 17591062]

17 Dambacher J, Staudinger T, Seiderer J, Sisic Z, Schnitzler F, Pfennig S, Hofbauer K, Konrad A, Tillack C, Otte JM, Diebold J, Göke B, Ochsenkühn T, Lohse P, Brand S. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) -173G/C promoter polymorphism influences upper gastrointestinal tract involvement and disease activity in patients with Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 71-82 [PMID: 17206642 DOI: 10.1002/ibd.20008]

18 Núñez C, Rueda B, Martínez A, López-Nevot MA, Fernández-Arquero M, de la Concha EG, Martín J, Urcelay E. Involvement of macrophage migration inhibitory factor gene in celiac disease susceptibility. *Genes Immun* 2007; 8: 168-170 [PMID: 17215861 DOI: 10.1038/sj.gene.6364365]

19 Nohara H, Okayama N, Inoue N, Koike Y, Fujimura K, Suehiro Y, Hamanaka Y, Higaki S, Yanai H, Yoshida T, Hibi T, Okita K, Hinoda Y. Association of the -173 G/C polymorphism of the macrophage migration inhibitory factor gene with ulcerative colitis. *J Gastroenterol* 2004; 39: 242-246 [PMID: 15065001 DOI: 10.1007/s00535-003-1284-7]

20 Oliver J, Márquez A, Gómez-Garcia M, Martinez A, Mendoza JL, Vilchez JR, López-Nevot MA, Piñero A, de la Concha EG, Nieto A, Urcelay E, Martín J. Association of the macrophage migration inhibitory factor gene polymorphisms with inflammatory bowel disease. *Gut* 2007; 56: 150-151 [PMID: 17172590 DOI: 10.1136/gut.2006.107649]

21 Rosado Jde D, Rodriguez-Sosa M. Macrophage migration inhibitory factor (MIF): a key player in protozoan infections. *Int J Biol Sci* 2011; 7: 1239-1256 [PMID: 22110378 DOI: 10.7150/ijbs.7.1239]

22 Grieb G, Merk M, Bernhagen J, Bucala R. Macrophage migration inhibitory factor (MIF): a promising biomarker. *Drug News Perspect* 2010; 23: 257-264 [PMID: 20520854 DOI: 10.1358/dnp.2010.23.4.1453629]

23 Bach JP, Rinn B, Meyer B, Dodel R, Bacher M. Role of MIF in inflammation and tumorigenesis. *Oncology* 2008; 75: 127-133 [PMID: 18791328 DOI: 10.1159/000155223]

24 Wong BL, Zhu SL, Huang XR, Ma J, Xia HH, Bucala R, Wong BC, Lan HY. Essential role for macrophage

migration inhibitory factor in gastritis induced by Helicobacter pylori. *Am J Pathol* 2009; 174: 1319-1328 [PMID: 19286569 DOI: 10.2353/ajpath.2009.080708]
25 Makhija R, Kingsnorth A, Demaine A. Gene polymorphisms of the macrophage migration inhibitory factor and acute pancreatitis. *JOP* 2007; 8: 289-295 [PMID: 17495357]
26 Denkinger CM, Metz C, Fingerle-Rowson G, Denkinger MD, Forsthuber T. Macrophage migration inhibitory factor and its role in autoimmune diseases. *Arch Immunol Ther Exp* (Warsz) 2004; 52: 389-400 [PMID: 15577740]
27 Daun JM, Cannon JG. Macrophage migration inhibitory factor antagonizes hydrocortisone-induced increases in cytosolic IkappaBalpha. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2000; 279: R1043-R1049 [PMID: 10956264]
28 Ohkawara T, Takeda H, Nishihira J, Miyashita K, Nihiwaki M, Ishiguro Y, Takeda K, Akira S, Iwanaga T, Sugiyama T, Asaka M. Macrophage migration inhibitory factor contributes to the development of acute dextran sulphate sodium-induced colitis in Toll-like receptor 4 knockout mice. *Clin Exp Immunol* 2005; 141: 412-421 [PMID: 16045730]
29 Murakami H, Akbar SM, Matsui H, Onji M. Macrophage migration inhibitory factor in the sera and at the colonic mucosa in patients with ulcerative colitis: clinical implications and pathogenic significance. *Eur J Clin Invest* 2001; 31: 337-343 [PMID: 11298781]
30 张启芳, 邱小芬, 张翠萍, 杨建彬, 陈卓琳. 巨噬细胞移动抑制因子在炎症性肠病发病中的作用. 世界华人消化杂志 2008; 16: 1645-1648
31 Akyildiz M, Gunsar F, Nart D, Sahin O, Yilmaz F, Akay S, Ersoz G, Karasu Z, Ilter T, Batur Y, Berdeli A, Akarca U. Macrophage migration inhibitory factor expression and MIF gene -173 G/C polymorphism in nonalcoholic fatty liver disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2010; 22: 192-198 [PMID: 19829123]
31 Herder C, Klopp N, Baumert J, Müller M, Khuseyinova N, Meisinger C, Martin S, Illig T, Koenig W, Thorand B. Effect of macrophage migration inhibitory factor (MIF) gene variants and MIF serum concentrations on the risk of type 2 diabetes: results from the MONICA/KORA Augsburg Case-Cohort Study, 1984-2002. *Diabetologia* 2008; 51: 276-284 [PMID: 17712545]
33 Copas J, Shi JQ. Meta-analysis, funnel plots and sensitivity analysis. *Biostatistics* 2000; 1: 247-262 [PMID: 12933507]
34 Chootrakool H, Shi JQ, Yue R. Meta-analysis and sensitivity analysis for multi-arm trials with selection bias. *Stat Med* 2011; 30: 1183-1198 [PMID: 21538449]

编辑 田滢 电编 闫晋利

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版)

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

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

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

世界华人消化杂志 2013年4月28日; 21(12): 1146-1151
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

新诊断2型糖尿病患者外周单核细胞ROCK活性与胰岛素抵抗以及胰岛β细胞功能的关系

吴斌, 高倩, 楚晓婧, 张玫, 黄亨建, 李贵星, 王兰兰

■背景资料
Rho相关激酶(Rho-associated kinases, ROCKs)常用于预测心血管疾病, 包括动脉粥样硬化和心肌缺血再灌注损伤. 现在的观点认为心血管疾病患者若合并糖尿病, 心血管事件的发生率显著性上升.

吴斌, 四川大学华西医院实验医学科 四川省成都市 610041
高倩, 卫生部临床检验中心, 北京协和医学院研究生院 北京市 100730
楚晓婧, 华中科技大学同济医学院附属同济医院内分泌科 湖北省武汉市 430030
张玫, 黄亨建, 李贵星, 王兰兰, 四川大学华西医院实验医学科 四川省成都市 610041
吴斌, 主要从事消化系和糖尿病并发症的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81101326
四川省科技支撑计划基金资助项目, No. 2010SZ0252
作者贡献分布: 吴斌与高倩对此文所作贡献均等; 此课题由吴斌设计; 病例收集由楚晓婧与张玫共同完成; 研究所用新试剂与分析工具由李贵星提供; 数据分析由吴斌、高倩及王兰兰完成; 本论文写作由吴斌完成.
通讯作者: 王兰兰, 教授, 主任检验师, 博士生导师, 610041, 四川省成都市外南国学巷37号, 四川大学华西医院实验医学科.
wchcbc@yahoo.com.cn
电话: 028-85422615 传真: 028-85423496
收稿日期: 2013-02-20 修回日期: 2013-03-18
接受日期: 2013-04-13 在线出版日期: 2013-04-28

Correlation of insulin resistance, pancreatic β-cell function and insulin sensitivity with increased Rho-associated kinase activity in PBMCs in patients with newly diagnosed type 2 diabetes

Bin Wu, Qian Gao, Xiao-Jing Chu, Mei Zhang, Heng-Jian Huang, Gui-Xing Li, Lan-Lan Wang

Bin Wu, Department of Laboratory Medicine, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China
Qian Gao, National Center for Clinical Laboratories, Chinese Academy of Medical Science and Peking Union Medical College, Beijing 100730, China
Xiao-Jing Chu, Department of Endocrinology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China
Mei Zhang, Heng-Jian Huang, Gui-Xing Li, Lan-Lan Wang, Department of Laboratory Medicine, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China
Supported by: National Nature Science Foundation of China, No. 81101326; the Sichuan Provincial Scientific Plan Foundation, No. 2010SZ0252
Correspondence to: Lan-Lan Wang, Professor, Chief Technician, Department of Laboratory Medicine, West China Hospital, Sichuan University, 37 Wainan Guoxuexiang, Chengdu 610041, Sichuan Province, China. wchcbc@yahoo.com.cn
Received: 2013-02-20 Revised: 2013-03-18
Accepted: 2013-04-13 Published online: 2013-04-28

Abstract

AIM: To observe the correlation of peripheral mononuclear cells' Rho-associated kinase activity in peripheral mononuclear cells with HOMA-IR, HOMA-%S and HOMA-%B in patients with newly diagnosed type 2 diabetes (T2D) and healthy subjects.

METHODS: For this study, 33 patients with T2D and 33 healthy participants were enrolled and evaluated for clinical and metabolic parameters. Biochemical quantifications and fasting plasma insulin measurement were performed with ROCHE DDP and E601 auto-analyzers, respectively. Rho-associated kinase activity was evaluated in peripheral mononuclear cells by Western blot and defined as the ratio of phosphor myosin-binding subunit on myosin light chain phosphatase to total myosin-binding subunit. HOMA-IR, HOMA-%S and HOMA-%B were calculated with a HOMA2 calculator.

RESULTS: The levels of total cholesterol, LDL-cholesterol, triglycerides and fasting glucose were significantly raised (5.4 ± 0.8 *vs* 4.1 ± 0.6, 3.7 ± 0.8 *vs* 2.8 ± 0.6, 1.7 ± 0.3 *vs* 1.1 ± 0.2, 8.1 ± 0.9 *vs* 5.4 ± 0.4, all $P < 0.001$) and HDL-cholesterol significantly decreased (0.7 ± 0.1 *vs* 1.2 ± 0.1, $P < 0.001$) in T2D subjects compared with healthy subjects. HOMR-IR significantly increased (4.3 ± 1.5 *vs* 2.4 ± 1.1, $P < 0.001$) and HOMA-%B and HOMA-%S significantly declined (95.5 ± 21.4 *vs* 118.2 ± 16.9, 40.2 ± 11.9 *vs* 65.9 ± 7.7, both $P < 0.001$) in T2D subjects compared with healthy subjects. ROCK activity was more markedly raised in T2D subjects than in healthy subjects (0.63 ± 0.15 *vs* 0.40 ± 0.12, $P < 0.05$). The expression of total MBS, ROCK1 and ROCK2 did not differ significantly between the two groups. In diabetic subjects, ROCK activity was positively correlated with HOMA-IR and negatively with HOMA-%B.

CONCLUSION: Our findings suggest that pan-

■同行评议者
于珮, 主任医师, 天津医科大学代谢病医院; 傅志仁, 主任医师, 上海长征医院器官移植科

creatic β-cell dysfunction and the development of type 2 diabetes are associated with ROCK activity in peripheral mononuclear cells.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Rho-associated kinase; Diabetes; Insulin resistance; Correlation

Wu B, Gao Q, Chu XJ, Zhang M, Huang HJ, Li GX, Wang LL. Correlation of insulin resistance, pancreatic β-cell function and insulin sensitivity with increased Rho-associated kinase activity in PBMCs in patients with newly diagnosed type 2 diabetes. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(12): 1146-1151 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1146.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1146

摘要

目的: 探讨外周单核细胞Rho相关激酶(Rho-associated kinases, ROCKs)与胰岛素抵抗、胰岛素β细胞功能的关系.

方法: 研究对象来自于2010-10/2010-12被明确诊断为糖尿病的门诊与体检患者, 受试者均为采用空腹血糖检查和高效液相法测定糖化血红蛋白水平. 应用Western blot检测新诊断2型糖尿病患者外周单核细胞磷酸化肌球蛋白亚基(phosphor-myosin-binding subunit, p-MBS)与总肌球蛋白亚基(total myosin-binding subunit, t-MBS)蛋白水平, 并借由两者的比率反映ROCK活性, 分析其与稳态胰岛素评价指数(HOMA-IR)、胰岛素分泌功能指数(HOMA-%B)和胰岛素敏感指数(HOMA-%S)间相关关系.

结果: 与健康对照组相比, 糖尿病组总胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇、甘油三酯和空服血糖水平显著升高(5.4±0.8 *vs* 4.1±0.6, 3.7±0.8 *vs* 2.8±0.6, 1.7±0.3 *vs* 1.1±0.2, 8.1±0.9 *vs* 5.4±0.4, $P<0.001$), 高密度脂蛋白胆固醇水平则显著降低(0.7±0.1 *vs* 1.2±0.1, $P<0.001$); 与健康对照组相比, 糖尿病组HOMA-IR显著增高(4.3±1.5 *vs* 2.4±1.1, $P<0.001$), 而HOMA-%B与HOMA-%S则显著降低(95.5±21.4 *vs* 118.2±16.9, 40.2±11.9 *vs* 65.9±7.7, $P<0.001$); 糖尿病组与健康组相比ROCK活性显著升高(0.63±0.15 *vs* 0.40±0.12, $P<0.05$); total-MBS、ROCK1和ROCK2表达水平两者间无显著性差异; 在糖尿病患者中, ROCK活性与HOMA-IR呈正相关、与HOMA-%B/HOMA-%S则呈负相关.

结论: 2型糖尿病的胰腺β-细胞功能障碍与ROCKs活性密切相关.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: Rho相关激酶; 糖尿病; 胰岛素抵抗; 相关性

核心提示: 本研究结果提示在糖尿病患者中, Rho相关激酶((Rho-associated kinases, ROCKs))与HOMA-IR呈正相关、与HOMA-%B/HOMA-%S则呈负相关. 我们认为2型糖尿病的胰腺β-细胞功能障碍与ROCKs活性密切相关.

吴斌, 高倩, 楚晓婧, 张玫, 黄亨建, 李贵星, 王兰兰. 新诊断2型糖尿病患者外周单核细胞ROCK活性与胰岛素抵抗以及胰岛β细胞功能的关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(12): 1146-1151 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1146.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1146

■研发前沿
ROCKs活性的增加可能抑制胰岛β细胞功能和/或导致肝脏、骨骼肌、脂肪组织、血管和心脏等对胰岛素的作用产生抵抗. 然而, ROCKs在糖尿病临床诊断、治疗方面的研究较少, 是否可以作为诊断生物标志物或观察治疗效果的靶点尚不确定.

0 引言

Rho相关激酶(Rho-associated kinases, ROCKs)属于丝氨酸/苏氨酸激酶家族, 是小GTP酶RhoA下游反应信号蛋白[1]. ROCKs在肌动蛋白细胞骨架的组织起着重要的作用, 涉及范围广泛的基本细胞功能, 如收缩, 黏附, 迁移, 增殖和基因表达[2]. ROCKs有两个亚型, ROCK1和ROCK2, 一般认为两个亚型为功能上基本一致, 依据是两者具有类似的酶激动剂、高度同源结构域[3]. Liao等[4]证实化学抑制剂Y27632(法舒地尔, fasudil)能够有效的抑制ROCK1和ROCK2. ROCKs常用于预测心血管疾病, 包括动脉粥样硬化和心肌缺血再灌注损伤. 现在的观点认为心血管疾病患者若合并糖尿病, 心血管事件的发生率显著性上升. 在糖尿病动物模型中ROCKs参与了糖尿病所致的心脏损伤[5], 然而我们现在不确定ROCKs活性变化是否在糖尿病发生早期出现显著变化, 是否与胰岛素抵抗, 胰岛β-细胞功能和胰岛素敏感性相关. 因此, 我们的目的是观察初诊2型糖尿病的患者和正常健康志愿者外周单核细胞ROCKs活性同HOMA-IR, HOMA-%B(反映胰岛β细胞功能)与HOMA-%S(反映胰岛素敏感性)等相关性, 以此为ROCKs激酶在2型糖尿病患者糖尿病初诊后的治疗和病理生理变化提供初步的研究结果.

1 材料和方法

1.1 材料 2型糖尿病患者33例, 依照世界卫生组织1999年诊断标准在四川大学华西医院内分泌代谢科和华中科技大学同济医学院附属同济

■相关报道
Soga等的研究提示不断累积心血管疾病的风险可能会增加ROCK活性、引起内皮功能障碍, 导致严重的心血管疾病进展和转归. 哈佛大学学者发现ROCKs活性的变化可以用来判断动脉粥样硬化患者服用锐速伐他汀和阿托伐他汀的治疗效果; 日本的研究小组则将ROCKs作为诊断血管痉挛性心绞痛的实用型生物标志物.

表 1 研究对象一般资料

变量	健康人群	2型糖尿病患者	*P*值
年龄(岁)	52.9±4.6	51.9±4.8	>0.05
质量指数(kg/m^2)	23.8±3.3	24.1±4.2	>0.05
腰围(cm)	81.2±8.1	82.3±8.7	>0.05
腰臀比	0.88±0.07	0.88±0.08	>0.05
收缩压(mmHg)	125±15	130±12	<0.001
舒张压(mmHg)	79±5	83±7	<0.001
糖化血红蛋白(%)	5.5±0.3	7.3±0.5	<0.001
总胆固醇(mmol/L)	4.1±0.6	5.4±0.8	<0.001
低密度脂蛋白-胆固醇(mmol/L)	2.8±0.6	3.7±0.8	<0.001
高密度脂蛋白-胆固醇(mmol/L)	1.2±0.1	0.7±0.1	<0.001
甘油三酯(mmol/L)	1.1±0.2	1.7±0.3	<0.001
空腹血糖(mmol/L)	5.4±0.4	8.1±0.9	<0.001
胰岛素(uIU/mL)	13.3±1.5	23.6±2.1	<0.001
胰岛素评价指数	2.4±1.1	4.3±1.5	<0.001
胰岛素分泌指数	118.2±16.9	95.5±21.4	<0.001
胰岛素敏感指数	65.9±7.7	40.2±11.9	<0.001

医院内分泌科确诊, 其中男17例, 女16例, 平均年龄51.9岁±4.8岁, 体质量指数24.1 kg/m^2±4.2 kg/m^2.

正常对照组33名来自四川大学华西医院健康体检中心, 与2型糖尿病患者年龄、性别匹配, 其中男17名, 女16名, 年龄52.9岁±4.6岁, 体质量指数23.8 kg/m^2±3.3 kg/m^2. 选自无糖尿病、自身免疫性疾病及其相关家族史的体检志愿者. 75 g OGTT空服血糖<5.6 mmol/L, 糖负荷2 h血糖<7.8 mmol/L. 所有研究对象均知情同意.

淋巴细胞分离液、DTT和蛋白酶抑制剂购自Sigma-Aldrich公司; fasudil购自Asshi Chemical公司; M199培养基购自Life technology公司; phosphor-Thr853-MBS抗体、抗T-MBS抗体、抗Tubulin抗体、ROCK1和ROCK2抗体购自Cell Signaling公司; 三氯乙酸购自国药集团化学试剂北京有限公司.

1.2 方法

1.2.1 标本收集: 收集符合入选条件的正常对照者和2型糖尿病患者外周血40-80 mL, 同时进行详尽的病史采集、体格检查、实验室检查. 使用淋巴细胞分离液, 其中加入10 nmol/L fasudil并按照Ficoll-Hypaque密度梯度离心法分离PBMC. 采用M199培养基重悬PBMC, 镜检后将细胞稀释至5×10^{6}个/mL. 配制固定液(50%三氯乙酸、50 mmol/L DTT和蛋白酶抑制剂)按比例加入细胞悬液分装冻存于超低温冰箱(-80 ℃)[6], 以备Western blot分析.

1.2.2 p-MBS/t-MBS和ROCK1/ROCK2检测: 如前所述进行Western blot分析, 使用phospho-Thr853-MBS抗体或抗-MBS抗体、ROCK1和ROCK2抗体[6]. NIH 3T3细胞裂解物用作阳性对照. Rho激酶活性表示为:

ROCK活性 = (Ap-MBS-样品/Ap-MBS-阳性对照)/(At-MBS-样品/At-MBS-阳性对照), 其中A为灰度扫描所得数值.

统计学处理 采用SPSS13.0分析, 数据以means±SE表示. 本研究所采用的统计方法: 两组数据之间的比较采用独立样本*t*检验. 通过Pearson相关分析ROCK激酶活性与HOMA-IR、HOMA-%B、HOMA-%S(反映胰岛素敏感性)之间的关系, *P*<0.05表示为统计学意义.

2 结果

2.1 研究对象的一般情况 从表1可知, 与正常对照组相比, 2型糖尿病患者收缩压和舒张压水平则显著增高(*P*<0.001). 初诊2型糖尿病的患者HbA1c%、总胆固醇、LDL-C、甘油三酯、空服血糖、血浆胰岛素等水平显著高于正常健康志愿者(*P*<0.001, 表1); HDL-C水平则显著降低(*P*<0.001, 表1). 根据以上实验室指标计算胰岛功能相关指数, 入选的33名健康志愿者的HOMA-%B/HOMA-%S明显高于初诊的2型糖尿病患者, 而2型糖尿病患者的HOMA-IR指数则显著升高(*P*<0.001, 表1). 初诊为2型糖尿病的患者与正常对照志愿者相比, 年龄、体质量指数

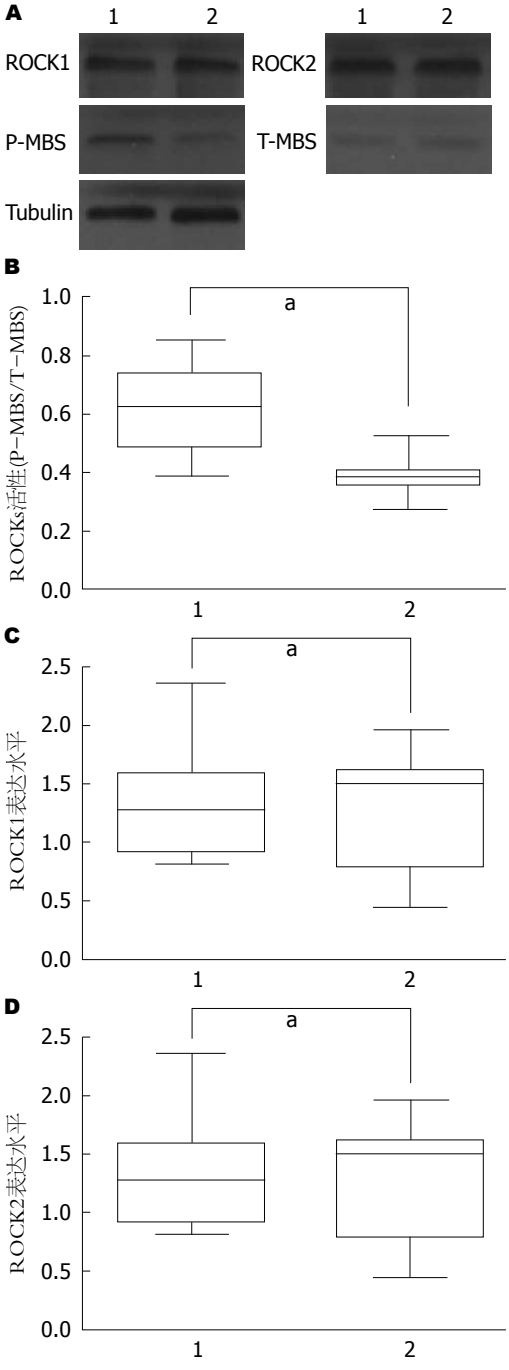


图 1 2型糖尿病患者与正常健康人外周单核细胞ROCK1、ROCK2、P-MBS和T-MBS蛋白水平分析. A: Western blot分析外周单核细胞ROCK1、ROCK2、P-MBS和T-MBS蛋白; B: ROCK活性分析; C: ROCK1表达水平分析; D: ROCK2表达水平分析; 1: 2型糖尿病患者; 2: 正常健康人; $^aP<0.05$ *vs* 正常健康人.

(body mass index, BMI)、腰围和腰臀比等指标均为无明显差异($P>0.05$, 表1).

2.2 初诊2型糖尿病组与正常对照组外周单核细胞ROCK激酶活性比较 与正常对照组ROCK活性(0.40±0.12)比较, 初诊2型糖尿病患者组外周单核细胞ROCK活性(0.63±0.15)显著升高($P<0.001$, 图1), 而ROCK1与ROCK2蛋白表达水平两者无明显差异($P>0.05$, 图1).

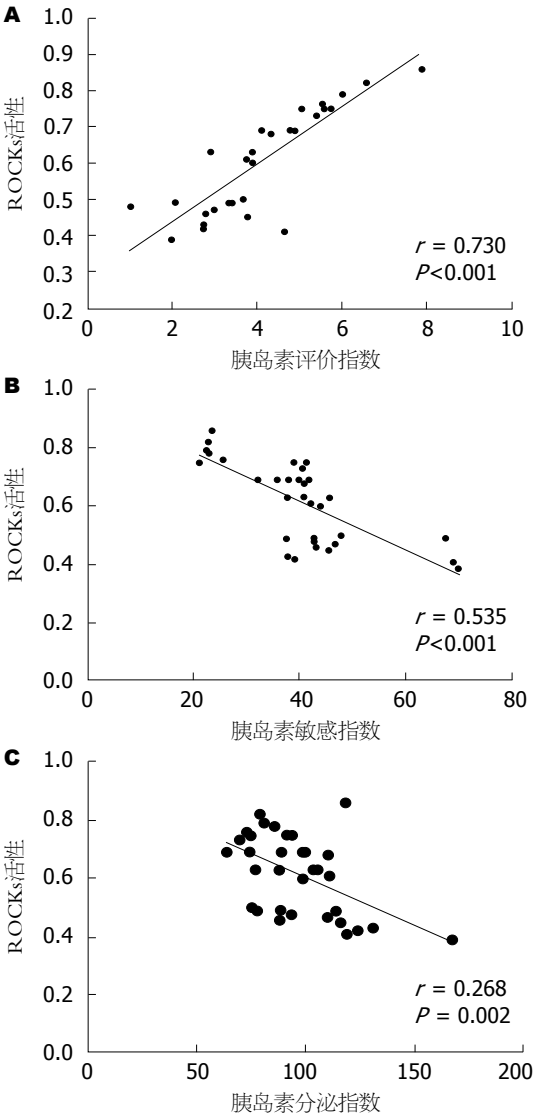


图 2 ROCKs激酶活性与胰岛相关功能指数相关性分析. A: ROCKs活性与胰岛素抵抗评价指数相关性分析; B: ROCKs活性与胰岛素敏感指数相关性分析; C: ROCKs活性与胰岛素分泌指数相关性分析. 每名受试者(2型糖尿病患者)表示符号(黑点), r = 皮尔森相关系数, $P<0.01$为差异有统计学意义.

2.3 初诊2型糖尿病患者ROCK活性与胰岛相关功能指数相关性分析 Pearson相关分析显示(图2), 2型糖尿病患者外周单核细胞ROCK活性与HOMA-IR呈正相关(r = 0.730, $P<0.001$), 与HOMA-%B、HOMA-%S呈负相关(r = 0.535, $P<0.001$; r = 0.268, P = 0.002).

3 讨论

我们发现初诊为2型糖尿病的患者外周单核细胞ROCK1与ROCK2蛋白表达水平并无明显差异, 依此推测, ROCKs激酶蛋白表达水平与糖尿病发生早期的胰岛功能的变化相关性不明显. 然而, ROCK活性改变则显著升高, 导致其相关

■创新盘点

已有众多的基于糖尿病动物模型的研究报道, 但将ROCKs用于预测、判断和分析其与初诊2型糖尿病患者早期胰岛素抵抗、胰岛功能和胰岛素敏感等指标的临床小样本研究则相对较少. 本研究提示可进一步将其作为早期糖尿病诊断或相应治疗的生物标志物.

■应用要点

检测外周血ROCKs活性的技术方法相当简便、成熟; 若能将其运用在分析不同糖尿病治疗药物(例如: 各种类型胰岛素、磺脲类、双胍类和GLP-1等)效果方面前景相当广阔.

信号通路变化, 从而引起胰岛素信号途径异常或诱发炎症等. 本研究也证实, ROCK活性与胰岛素抵抗指数明显呈正相关, 即胰岛素抵抗程度愈严重, ROCK活性则愈强, 两者间相互作用则进一步加重胰岛素抵抗, 导致糖尿病症状的加重. ROCKs活性的增加则可能抑制胰岛β细胞功能和/或导致肝脏、骨骼肌、脂肪组织、血管和心脏等对胰岛素的作用产生抵抗.

最近, Rho/Rho激酶信号通路吸引了大量的关注并因此开展了众多糖尿病并发症的相关研究[7]. 1型或2型糖尿病的动物模型与高浓度葡萄糖刺激体外培养细胞等均发ROCKs的活性和基因表达的上调[8-10]; 另一方面, Zucker肥胖型大鼠在口服ROCKs抑制剂盐酸法舒地尔后可以显著性抑制肌肉组织胰岛素受体底物-1丝氨酸磷酸化从而改善胰岛素抵抗[11]. 同样的研究证据亦显示糖尿病小鼠模型口服ROCKs抑制剂显著改善糖尿病所致的肾小球基底膜增厚和保护足细胞, 从而改善肾小球硬化和间质纤维化[12]. Chun等[13]的研究则提示健康人与肥胖人群肌肉ROCK1活性变化与大剂量胰岛素刺激呈正相关, 而2型糖尿病患者肌肉组织则恰好相反. 那么, 是否可以认为2型糖尿病影响了体内胰岛素对ROCKs相关激酶活性的调节, 导致ROCKs活性发生缺陷? 这可能需要我们进一步提供相关临床研究证据.

伴随对ROCKs的深入研究, 越来越多的研究者将重点从剖析ROCKs的生物学功能转向其作为临床治疗靶点、各类相关疾病生物标志物等方面.哈佛大学医学院James和Liao等发现ROCKs活性的变化可以用来判断动脉粥样硬化患者服用锐速伐他汀和阿托伐他汀的治疗效果[14]; Kikuchi等[15]则认为中性粒细胞ROCKs是作为诊断血管痉挛性心绞痛的实用型生物标志物.

总之, 我们认为通过检测外周单核细胞ROCKs活性变化可以来判断早期糖尿病治疗效果. 我们进一步发现ROCK活性变化同胰岛素抵抗指数HOMA-IR呈正相关、与胰岛素敏感指呈负相关, 那么是否可以对注射不同类型胰岛素或服用双胍类、磺脲类以及最近正在临床逐步使用的GLP-1、DPP-4抑制剂等糖尿病患者, 检测外周ROCK活性以判断该药物的使用情况和状态. 将该指标纳入会更加有利于专科医师为患者提供个体化治疗的方案. 我们相信ROCK作为重要的角色作为2型糖尿病的病理生理研究、诊断和治疗将愈加明显.

4 参考文献

1 Breitenlechner C, Gassel M, Engh R, Bossemeyer D. Structural insights into AGC kinase inhibition. *Oncol Res* 2004; 14: 267-278 [PMID: 15206489]

2 Wettschureck N, Offermanns S. Rho/Rho-kinase mediated signaling in physiology and pathophysiology. *J Mol Med* (Berl) 2002; 80: 629-638 [PMID: 12395147 DOI: 10.1007/s00109-002-0370-2]

3 Shi J, Wei L. Rho kinase in the regulation of cell death and survival. *Arch Immunol Ther Exp* (Warsz) 2007; 55: 61-75 [PMID: 17347801 DOI: 10.1007/s00005-007-0009-7]

4 Liao JK, Seto M, Noma K. Rho kinase (ROCK) inhibitors. *J Cardiovasc Pharmacol* 2007; 50: 17-24 [PMID: 17666911 DOI: 10.1097/FJC.0b013e318070d1bd]

5 Zhou H, Li YJ, Wang M, Zhang LH, Guo BY, Zhao ZS, Meng FL, Deng YG, Wang RY. Involvement of RhoA/ROCK in myocardial fibrosis in a rat model of type 2 diabetes. *Acta Pharmacol Sin* 2011; 32: 999-1008 [PMID: 21743486 DOI: 10.1038/aps.2011.54]

6 Nohria A, Grunert ME, Rikitake Y, Noma K, Prsic A, Ganz P, Liao JK, Creager MA. Rho kinase inhibition improves endothelial function in human subjects with coronary artery disease. *Circ Res* 2006; 99: 1426-1432 [PMID: 17095725 DOI: 10.1161/01.RES.0000251668.39526.c7]

7 Rajagopalan LE, Davies MS, Kahn LE, Kornmeier CM, Shimada H, Steiner TA, Zweifel BS, Wendling JM, Payne MA, Loeffler RF, Case BL, Norton MB, Parikh MD, Nemirovskiy OV, Mourey RJ, Masferrer JL, Misko TP, Kolodziej SA. Biochemical, cellular, and anti-inflammatory properties of a potent, selective, orally bioavailable benzamide inhibitor of Rho kinase activity. *J Pharmacol Exp Ther* 2010; 333: 707-716 [PMID: 20228155 DOI: 10.1124/jpet.110.166033]

8 Didion SP, Lynch CM, Baumbach GL, Faraci FM. Impaired endothelium-dependent responses and enhanced influence of Rho-kinase in cerebral arterioles in type II diabetes. *Stroke* 2005; 36: 342-347 [PMID: 15637328 DOI: 10.1161/01.STR.0000152952.42730.92]

9 Didion SP, Lynch CM, Faraci FM. Cerebral vascular dysfunction in TallyHo mice: a new model of Type II diabetes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007; 292: H1579-H1583 [PMID: 17122191 DOI: 10.1152/ajpheart.00939.2006]

10 Naik JS, Xiang L, Hester RL. Enhanced role for RhoA-associated kinase in adrenergic-mediated vasoconstriction in gracilis arteries from obese Zucker rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2006; 290: R154-R161 [PMID: 16141308 DOI: 10.1152/ajpregu.00245.2005]

11 Kanda T, Wakino S, Homma K, Yoshioka K, Tatematsu S, Hasegawa K, Takamatsu I, Sugano N, Hayashi K, Saruta T. Rho-kinase as a molecular target for insulin resistance and hypertension. *FASEB J* 2006; 20: 169-171 [PMID: 16267124 DOI: 10.1096/fj.05-4197fje]

12 Komers R, Oyama TT, Beard DR, Tikellis C, Xu B, Lotspeich DF, Anderson S. Rho kinase inhibition protects kidneys from diabetic nephropathy without reducing blood pressure. *Kidney Int* 2011; 79: 432-442 [PMID: 20962741 DOI: 10.1038/ki.2010.428]

13 Chun KH, Choi KD, Lee DH, Jung Y, Henry RR, Ciaraldi TP, Kim YB. In vivo activation of ROCK1 by insulin is impaired in skeletal muscle of humans with type 2 diabetes. *Am J Physiol Endocrinol*

Metab 2011; 300: E536-E542 [PMID: 21189360 DOI: 10.1152/ajpendo.00538.2010]

14 Liu B, Cao HM, Li GY, Liu M, Feng J, Li J, Wang Q. Effects of rosuvastatin versus atorvastatin on rho-associated coiled-coil containing protein kinase activity and endothelial function in patients with atherosclerosis. *J Int Med Res* 2011; 39: 2314-2322 [PMID: 22289549]

15 Kikuchi Y, Yasuda S, Aizawa K, Tsuburaya R, Ito Y, Takeda M, Nakayama M, Ito K, Takahashi J, Shimokawa H. Enhanced Rho-kinase activity in circulating neutrophils of patients with vasospastic angina: a possible biomarker for diagnosis and disease activity assessment. *J Am Coll Cardiol* 2011; 58: 1231-1237 [PMID: 21903056 DOI: 10.1016/j.jacc.2011.05.046]

■同行评价

本文研究了2型糖尿病患者外周ROCK活性与胰岛素抵抗及胰岛细胞功能的关系, 具有一定的新颖性及研究价值.

编辑 田滢 电编 闫晋利

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

• 消息 •

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

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

世界华人消化杂志 2013年4月28日; 21(12): 1152-1155
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

病例报告 CASE REPORT

恶性黑色素瘤胃十二指肠转移1例

许 琮, 赵 秋, 杨 娟, 王 渝, 彭思思, 周 琦

■背景资料
恶性黑色素瘤(malignant melanoma, MM)是来源于黑色素细胞的恶性肿瘤, 恶性程度极高, 早期易转移, 国内外针对此类病例的报道多属个案报道.

许琮, 赵秋, 杨娟, 彭思思, 周琦, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科 湖北省武汉市 430030
王渝, 华中科技大学同济医学院附属同济医院病理科 湖北省武汉市 430030
许琮, 在读硕士, 主要从事消化系肿瘤的研究.
作者贡献分布: 此课题由周琦、赵秋及许琮设计; 文献检索、数据分析由许琮完成; 论文撰写由许琮与周琦完成; 病理诊断及免疫组织化学染色由王渝完成; 部分数据收集由彭思思与杨娟完成.
通讯作者: 周琦, 副教授, 430030, 湖北省武汉市解放大道1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院.
zhouqi1973@hotmail.com
电话: 027-83663208
收稿日期: 2013-01-30 修回日期: 2013-02-28
接受日期: 2013-04-07 在线出版日期: 2013-04-28

Gastroduodenal metastasis of malignant melanoma: A case report

Cong Xu, Qiu Zhao, Juan Yang, Yu Wang, Si-Si Peng, Qi Zhou

Cong Xu, Qiu Zhao, Juan Yang, Si-Si Peng, Qi Zhou, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China
Yu Wang, Department of Pathology, Tongji Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China
Correspondence to: Qi Zhou, Associate Professor, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, 1095 Jiefang Avenue, Hankou District, Wuhan 430030, Hubei Province, China. zhouqi1973@hotmail.com
Received: 2013-01-30 Revised: 2013-02-28
Accepted: 2013-04-07 Published online: 2013-04-28

Abstract
Malignant melanoma metastasis to the gastroduodenal tract is a rare, likely misdiagnosed entity. Here we report a case of choroidal melanoma lesion metastatic to the alimentary canal which was confirmed by digestive endoscopy and histopathology. Besides, we also reviewed the related literatures and summarized the endoscopic manifestations, clinicopathological characteristics and prognosis of this disease. Physicians should raise awareness of the endoscopic manifestations and histological characteristics of this rare clinical condition.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Malignant melanoma; Gastroduodenal metastasis

Xu C, Zhao Q, Yang J, Wang Y, Peng SS, Zhou Q. Gastroduodenal metastasis of malignant melanoma: A case report. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(12): 1152-1155
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1152.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1152

摘要
恶性黑色素瘤(malignant melanoma, MM)转移到胃、十二指肠等部位相对少见且易造成误诊. 为了探讨此种疾病临床病理学特点及内镜下表现. 本文报道了1例脉络膜恶性MM消化系转移的病例, 通过胃镜检查及活组织病理检查明确诊断, 并对相关的文献进行复习. 因此, 原发灶切除后临床医生要做到定期随访同时加强对其内镜下表现和病理学特征的认识.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 恶性黑色素瘤; 胃十二指肠转移

核心提示: 本文报道了1例恶性黑色素瘤(malignant melanoma)发生胃十二直肠转移的病例, 同时复习以往相关文献报道, 总结该种特殊而又恶性程度极高的疾病的内镜下表现、病理诊断以及其他临床资料, 以期在今后的临床工作中提高对此种疾病的早期诊断和治疗.

许琮, 赵秋, 杨娟, 王渝, 彭思思, 周琦. 恶性黑色素瘤胃十二指肠转移1例. 世界华人消化杂志 2013; 21(12): 1152-1155
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1152.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1152

0 引言
恶性黑色素瘤(malignant melanoma, MM)是一种临床上较为常见的恶性肿瘤之一, 虽然在世界范围包括我国的发病率并不高, 但却是所有恶性肿瘤中发病率增长最快的, 2000年我国的发病率统计仅为0.2/10万, 到2005-2007年我国发病率增长到1/10万, 每年新发病例约2万例[1]. 又因其是一种恶性程度极高的肿瘤, 发生早期转移的情况多见, 定期随访患者, 及时掌握患者的临床资料对发现是否存在其他部位的转移尤为重要.

■同行评议者
倪润洲, 教授, 南通大学附属医院消化内科

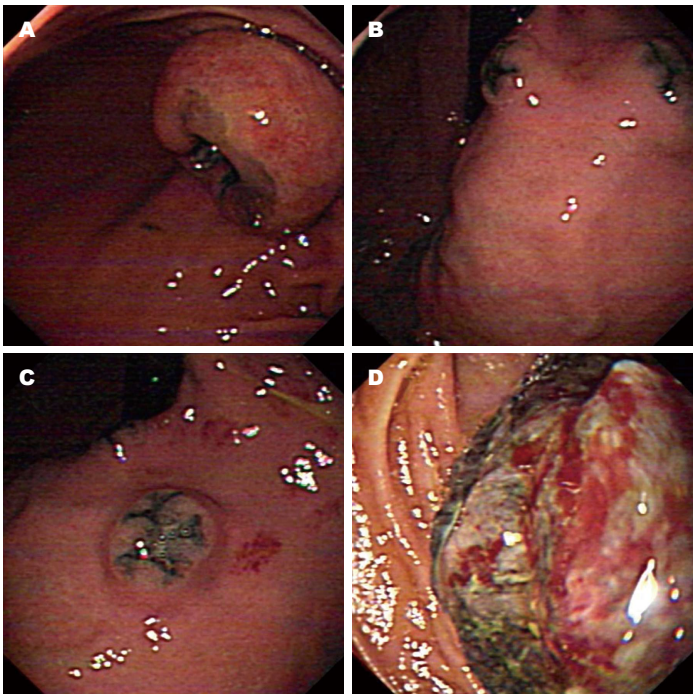


图 1 内镜下表现. A: 窦体交界处见一约2.0 cm×3.0 cm顶端黑色隆起病变; B: 胃底多发隆起性病变, 表面青黑色, 周边黏膜可见片状糜烂灶; C: 胃底隆起性病变, 顶端溃疡形成, 表面青黑色; D: 十二指肠降段见一巨大污秽血凝块.

■相关报道
国内报道的相关文献中, 有1例是肢端雀斑样痣黑素瘤发生胃及十二指肠同时转移的恶性MM患者, 未做任何治疗后出院, 随访不祥.

1 病例报告

男, 54岁, 2010-08曾因“左眼视物模糊3 mo, 加重1 mo”来我院就诊, 后行左眼磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)检查后考虑可能为MM伴视网膜剥离, 2010-09-10行左眼手术摘除, 术后病理证实为脉络膜MM. 2年来定期复查未见明显异常. 2012-08因诉“乏力、食欲下降3 mo余”来我院, 体格检查发现腹部及腋下有多处体表隆起, 最大直径约3 cm×2 cm, 表面呈浅淡蓝色, 质地较硬, 与周围组织无明显粘连. 后经细胞学穿刺检查证实为转移性MM(细胞编号2012-11695). 行胃镜检查, 发现胃底、胃体有多处隆起溃疡性病变, 周边堤样隆起, 表面呈青黑色, 污秽苔, 结节样, 活检质软.窦体交界处可见一大小约2.0 cm×3.0 cm隆起, 顶端溃疡形成, 表面黏膜糜烂. 十二指肠降段可见一巨大污秽血凝块, 基底显示不清取(图1)活检送病理检查, HE染色后镜下见黏膜浅层有2小灶异型细胞巢, 核分裂可见, 伴有少许棕褐色色素. 免疫组织化学显示肿瘤细胞HMB45、Melan-A及S-100强阳性, Ki-67增殖指数约为70%, 肿瘤细胞不表达CK8/18、PCK及LCA(图2). 进一步完善相关检查发现, 患者右中、下肺多个结节影, 考虑转移可能. 全身骨扫描后发现肿瘤多发骨转移可能. 头颅MRI检查后亦发现双侧额叶及半卵圆中心转移灶可能. 综合分析患者病情, 诊断为视网膜MM复发(腹壁、胃、十二指肠、腹腔、骨、肺、脑). 患者经济能力有限, 拒绝任何放化疗等治疗, 2012-08-30自动出院. 电话随访得知, 患者于2013-01-03因多器官功能衰竭去世.

2 讨论

MM是来源于黑色素细胞的恶性肿瘤, 大约65%MM都可归因于一个单纯的、可控制的危险因素(日光暴露)[2]. 最常见的原发灶多位于足跟、手掌、指趾和甲下等, 即肢端型MM, 我国统计资料显示约占所有MM的60%-70%, 其次为原发于黏膜的MM, 如直肠、肛门、眼、鼻咽部等, 占所有MM的22.6%[1].

发生于消化系的MM相对较罕见, 季政一[3]在1篇综述中总结, MM发生胃肠道转移者中仅约1%-4%可以在生前得到确诊, 且此种患者往往伴有其他内脏器官的转移. Panagiotou等[4]曾做过一项针对385例MM患者的回顾性研究, 其发现肢端型MM患者、原发灶为结节状者与发生胃肠道转移之间有一定相关性. 本例患者的原发灶是2010年发现的脉络膜MM, 属于原发于黏膜的MM, 不同于肢端型MM, 其致病因素尚未完全阐明, 有些文献报道发现, 甲醛也许是一种致病因素[5,6]. 此外, 已有研究证实位于9号染色体短臂的*p16*或*CDKN2A*的基因突变可能是MM高遗传易感性的主要原因[7]. 不恰当的处理因素可能与肿瘤迅速发展也有关系.

关于MM发生胃肠道转移的大多数综述以及相关文献复习中都曾提出过, MM转移到胃肠道的情况中多以小肠、结肠和肛直肠多见, 但

■创新盘点

本文中所描述的病例通过电子胃镜及病理免疫组织化学染色等方法诊断为MM胃肠道转移, 同时结合国内外检索的临床资料进行分析, 总结此种高度恶性疾病的病因、临床病理特征、内镜下表现及治疗方法.

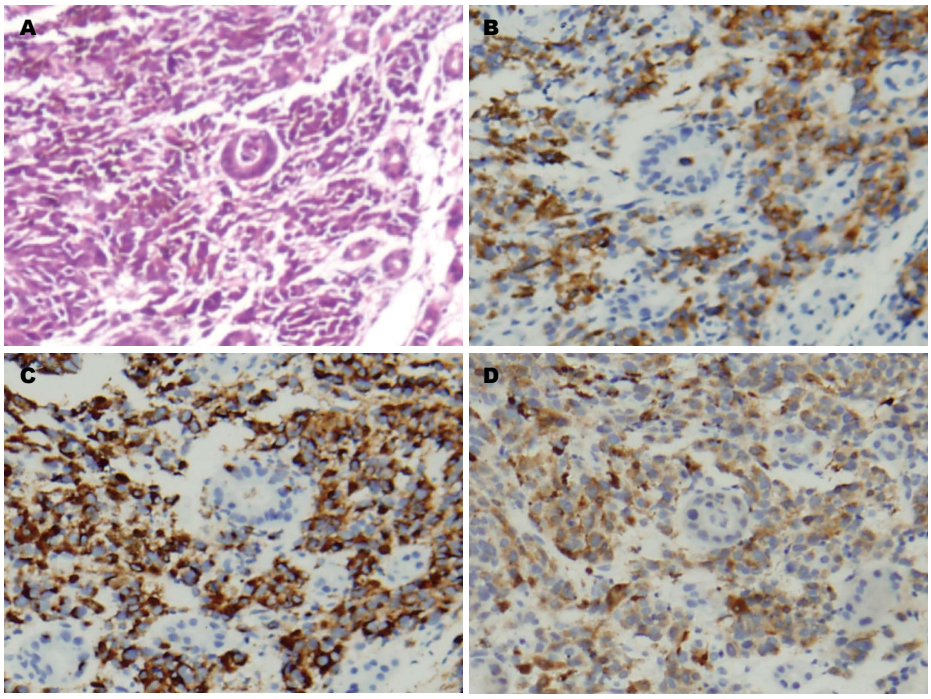


图 2 胃体隆起性病变活检+免疫组织化学. 病理(Ⅱ12-30828×100)可见异型细胞巢, 伴有少许棕褐色色素; 免疫组织化学检查显示Melan-A(+), HMB45(+), S-100(+). A: HE染色, 可见异型细胞巢, 伴有少许棕褐色色素; B: 免疫组织化学染色, Melan-A(+); C: 免疫组织化学染色, HMB45(+): D: 免疫组织化学染色, S-100(+).

是随着近几年肿瘤患者的预后情况明显改善后, 导致此种病例碰到的机会明显增加[8]. 我国对此种胃肠道转移性MM病例的描述仍以个案报道多见, 我们检索中国知网及万方中文数据库中1998-2013年所报道的发生胃和/或十二指肠恶性MM病例共计38例, 男27例, 女11例, 平均年龄约60岁, 基本符合MM男性发病率高于女性, 多见于中老年患者的规律, 其中同时发生胃及十二指肠转移的病例共计9例, 几乎都以多发隆起溃疡为主要内镜下表现. 胃肠道MM患者的临床表现并不典型, 以非特异性症状如食欲减退、慢性胃肠出血等为主, 常常容易被忽略. 针对这一特点, 过去有的文献提出, 对有症状患者进行腹部CT检查有很大必要性, 但尚有很大一部分患者无任何胃肠道症状. 最近几年随着消化内镜检查的优势逐渐显现, 掌握内镜下胃肠道MM的特点可以对诊断有很重要的辅助作用. 胡伟等[9]发表的一篇病例报告中有类似于本病例的胃和十二指肠同时发生转移的情况, 对肿瘤内镜下表现进行了很好的总结.

与临床病史资料同样重要的还有病理检查, 同大多数肿瘤一样, 病理诊断仍为MM诊断的金标准. 胃镜检查除了能够发现病变的外观形态上的变化之外, 活检也是优势之一. 恶性MM常见病理类型有浅表扩散型、结节型、恶性雀斑样、肢端雀斑样MM, 欧美国家中白种人以浅表扩散型为主, 亚非国家中的黄种人以肢端雀斑样MM多见[10]. 根据文献报道, 普通HE染色观察诊断该病有限, 使用免疫组织化学检查的方法则可以很好的发现该疾病. S-100蛋白对MM的诊断敏感性较高, 但特异性较差, HBM-45对MM的特异性较高[11], 两者结合可以提高诊断的准确性. 本例患者免疫组织化学结果显示: HMB45(+)、Melan-A(+)、S-100(+)支持恶黑胃内转移的诊断. 孙静阳等[12]尚在1篇文章中从病理检查角度分析了恶性MM胃内转移与原发性胃内肿瘤的鉴别方法, 其思路方法清晰, 很值得借鉴学习.

MM因其恶性程度极高, 手术切除仍然是早期阶段治疗的首选[13]. 本例患者在脉络膜恶性MM确诊后的两年后出现胃肠道症状时, 进一步完善相关检查发现已存在全身转移的征象, 已属于晚期阶段. 国内外诊疗指南中都指出此阶段可以采用化疗的方法治疗, 可以采用细胞毒性的化疗方案. 氮稀咪胺(DTIC)为30年前被美国FDA批准使用的烷化剂, 其治疗恶黑有效率20%[14]. 最近几年的研究发现Ipilimumab(抗CTLA-4单抗)及Vemurafenib(BRAFV600抑制剂)[15,16]可以延长晚期恶性MM患者的生存期, 其中Ipilimumab也是近10年来唯一一个获得FDA批准用于晚期恶性MM的药物, 然而遗憾的是这种药物目前国内尚未上市. 可以真正使用的化疗药物有限且费用高昂, 故临床工作中晚期阶段的患者预后及生存期限都不乐观.

根据中国诊治指南中提出, MM的5年生存率大约为5%-19%[1], 其预后与性别、年龄、部位、肿瘤厚度、淋巴结转移个数及乳酸脱氢

酶水平等相关[17]. 对于临床工作者而言, 早期发现、早期诊断及治疗恶性MM, 提高患者的预后及生存率, 仍然任重而道远.

3 参考文献

1 CSCO黑色素瘤专家委员会. 中国恶性黑色素瘤诊治指南2011版(修改版). 临床肿瘤学杂志 2012; 17: 159-171
2 Yang Q, Wei WB, Yang WL, Li B, Wang GL. Choroidal malignant melanoma in patients with oculodermal melanocytosis: report of three cases. *Chin Med J* (Engl) 2010; 123: 111-113 [PMID: 20137587]
3 季政一. 胃肠道黑色素瘤. 中国普通外科杂志 2000; 9: 362-364
4 Panagiotou I, Brountzos EN, Bafaloukos D, Stoupis C, Brestas P, Kelekis DA. Malignant melanoma metastatic to the gastrointestinal tract. *Melanoma Res* 2002; 12: 169-173 [PMID: 11930114 DOI: 10.1097/00008390-200204000-00010]
5 Holmstrom M, Lund VJ. Malignant melanomas of the nasal cavity after occupational exposure to formaldehyde. *Br J Ind Med* 1991; 48: 9-11 [PMID: 1993163]
6 Thompson LD, Wieneke JA, Miettinen M. Sinonasal tract and nasopharyngeal melanomas: a clinicopathologic study of 115 cases with a proposed staging system. *Am J Surg Pathol* 2003; 27: 594-611 [PMID: 12717245 DOI: 10.1097/00000478-200305000-00004]
7 High WA, Robinson WA. Genetic mutations involved in melanoma: a summary of our current understanding. *Adv Dermatol* 2007; 23: 61-79 [PMID: 18159896 DOI: 10.1016/j.yadr.2007.07.009]
8 De Palma GD, Masone S, Rega M, Simeoli I, Donisi M, Addeo P, Iannone L, Pilone V, Persico G. Metastatic tumors to the stomach: clinical and endoscopic features. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 7326-7328 [PMID: 17143949]
9 胡伟, 时昭红, 毛德华, 于皆平, 吴玉芳. 胃十二指肠转移性黑色素瘤1例. 世界华人消化杂志 2007; 15: 3152-3153
10 Mueller CS, Reichrath J. Histology of melanoma and nonmelanoma skin cancer. *Adv Exp Med Biol* 2008; 624: 215-226 [PMID: 18348459 DOI: 10.1007/978-0-387-77574-6_17]
11 陈春梅, 夏和顺, 吴昌鸣. 黏膜恶性黑色素瘤病理学和免疫组织化学研究. 肿瘤防治研究 2000; 27: 378-379
12 孙静阳, 胡波, 于晶功, 裴笑月. 胃转移性恶性黑色素瘤1例. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1928-1931
13 Margo CE. The Collaborative Ocular Melanoma Study: an overview. *Cancer Control* 2004; 11: 304-309 [PMID: 15377989]
14 高永良. 女性生殖道黑色素瘤的诊疗进展. 国外医学•妇产科学分册 1997; 24: 195-198
15 Harding JJ, Pulitzer M, Chapman PB. Vemurafenib sensitivity skin reaction after ipilimumab. *N Engl J Med* 2012; 366: 866-868 [PMID: 22375995 DOI: 10.1056/NEJMc1114329]
16 Rochet NM, Kottschade LA, Markovic SN. Vemurafenib for melanoma metastases to the brain. *N Engl J Med* 2011; 365: 2439-2441 [PMID: 22188003 DOI: 10.1056/NEJMc1111672]
17 Essner R, Lee JH, Wanek LA, Itakura H, Morton DL. Contemporary surgical treatment of advanced-stage melanoma. *Arch Surg* 2004; 139: 961-966; discussion 966-967 [PMID: 15381613 DOI: 10.1001/archsurg.139.9.961]

编辑 李军亮 电编 闫晋利

■同行评价

本文报道了1例脉络膜恶性MM胃十二指肠转移的病例, 结合复习文献, 对恶性MM胃十二场转移的内镜下表现以及本病的病因、临床特征、病理表现及治疗方法进行了介绍, 有助于提高临床医生对本病的诊治水平.

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》栏目设置

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

世界华人消化杂志 2013年4月28日; 21(12): 1156-1158
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

病例报告 CASE REPORT

白塞病合并自发性多发肠穿孔1例

高 源, 孙志俭, 张宪祥

■背景资料
白塞病(Behcet's disease, BD)作为一种全身性免疫系统疾病, 累及器官众多, 给临床诊断带来困难, 极易发生误诊.

高源, 孙志俭, 张宪祥, 青岛大学医学院附属医院黄岛院区外一科 山东省青岛市 266500
高源, 主要从事胃肠方面的研究.
作者贡献分布: 本文由高源与孙志俭收集资料; 高源负责文章的撰写; 孙志俭与张宪祥审校.
通讯作者: 高源, 266500, 山东省青岛市开发区五台山路1677号, 青岛大学医学院附属医院黄岛院区外一科.
gyatqy025@163.com
收稿日期: 2013-01-21 修回日期: 2013-03-19
接受日期: 2013-04-13 在线出版日期: 2013-04-28

Behcet's disease with multiple spontaneous intestinal perforations: A case report

Yuan Gao, Zhi-Jian Sun, Xian-Xiang Zhang

Yuan Gao, Zhi-Jian Sun, Xian-Xiang Zhang, Department of Surgery (Division I), the Huangdao Branch of Affiliated Hospital of Medical College of Qingdao University, Qingdao 266500, Shandong Province, China
Correspondence to: Yuan Gao, Department of Surgery (Division I), the Huangdao Branch of Affiliated Hospital of Medical College of Qingdao University, 1677 Wutaishan Road, Qingdao 266500, Shandong Province, China. gyatqy025@163.com
Received: 2013-01-21 Revised: 2013-03-19
Accepted: 2013-04-13 Published online: 2013-04-28

Abstract
Behcet's disease may lead to perforation of the intestine, which is often misdiagnosed. Surgical operation is the main treatment, but intestinal fistula is an important postoperative complication. Therefore, surgical treatment of Behcet's disease requires reasonable operation planning, unobstructed drainage and effective postoperative treatment.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Behcet's disease; Intestinal perforation; Surgical operation

Gao Y, Sun ZJ, Zhang XX. Behcet's disease with multiple spontaneous intestinal perforations: A case report. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(12): 1156-1158 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1156.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1156

摘要
白塞病(Behcet's disease, BD)累及消化系统时, 易造成肠穿孔, 临床上常发生误诊, 手术是主要治疗手段, 但疗效欠佳, 术后易并发肠瘘. 所以本病的外科治疗需制定合理的手术方案, 通畅引流, 术后积极进行长期有效的内科治疗.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 白塞病; 肠穿孔; 手术

核心提示: 白塞病(Behcet's disease)是一种病程迁延、多脏器受累的全身性疾病. 因此, 完善的辅助检查及仔细的体格检查尤为重要, 手术时合理制定手术方案, 通畅引流, 术后进行适当的内科治疗, 并应对患者进行长期随访.

高源, 孙志俭, 张宪祥. 白塞病合并自发性多发肠穿孔1例. 世界华人消化杂志 2013; 21(12): 1156-1158 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1156.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i12.1156

0 引言
白塞病(Behcet's disease, BD)是一种慢性反复发作并累及全身的血管炎性疾病. 临床表现主要为口腔溃疡、生殖器溃疡、眼炎及皮肤损害. 对于累及消化系统, 并证实发生溃疡病变者则称为肠白塞病(intestinal Behcet's disease, IBD). 在临床工作中, IBD往往认识不够, 容易出现误诊误治. 我们结合近期诊治的1例以自发性肠多发溃疡并穿孔为主要表现的肠型BD, 复习文献并对肠型BD的临床病理特点及诊断治疗进行以下总结.

1 病例报告
男, 46岁, 因"阑尾切除术后13 d"于2012-07-23入院. 查体: T 36.5 ℃, P 72次/min, R 18次/min, BP 120/84 mmHg(1 mmHg = 0.133 kPa). 神志清, 精神差, 贫血貌; 腹部平坦, 对称, 右下腹见引流管, 引流出深黄色肠液, 腹部切口下部见一大小约1.5 cm×1.5 cm残腔, 深及皮下, 腹部柔软, 右侧腹轻压痛、无反跳痛, 腹部叩诊呈鼓音, 肝肾区无叩击痛, 无移动性浊音. 肠鸣音正

■同行评议者
卜平, 教授, 主任医师, 扬州大学医学院, 苏北人民医院消化内科308病区; 王学美, 研究员, 北京大学第一医院中西医结合研究室

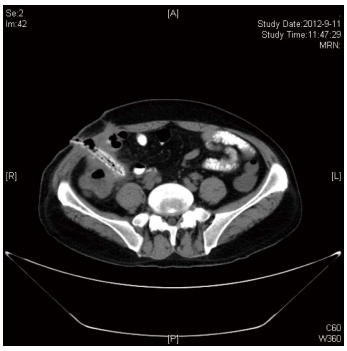


图 1 术后腹部CT结果.

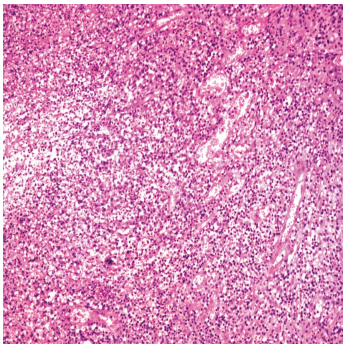


图 2 术后病理检查结果(HE, ×100).

常, 5次/min. 辅助检查: 血常规示白血球3.11×10^9/L, N 42.84%, 红细胞2.46×10^{12}/L, 血红蛋白78.00 g/L, 血细胞比容25.90%; 血沉46.3 mm/h; C反应蛋白72.81 mg/L; 免疫球蛋白中度升高, 抗核抗体、结核抗体、类风湿因子、抗中性粒细胞胞浆抗体及补体检查均为阴性. 引流液细菌培养示: 粪场球菌; 腹部CT检查示: 右下腹局部见引流管影, 可见对比剂进入引流管内; 右下腹回盲部结构紊乱, 壁增厚, 周围脂肪间隙密度增高(图1). 既往史: 患者患有口腔及会阴部多发反复性溃疡、关节酸痛、毛囊炎样皮疹5年余, 13 d前因“右侧腹部疼痛不适反复性发作10 d余”在当地医院以“腹痛待诊: 急性阑尾炎?”行急诊剖腹探查. 术中所见: 腹腔内较多黄色积液, 探查阑尾时发现有肠内容物溢出, 仔细探查见距回盲部约50 cm回肠肠壁水肿, 可见多发穿孔, 直径大者约3.0 cm, 并见肠壁多发结节状肿物, 给予多处回肠穿孔修补+回肠肿物切除活检术. 术后病理我院会诊示: 回肠壁符合炎性肠病表现(图2). 术后第2天出低热, 术后第9天引流管引流出深黄色肠液样液体, 遂转入我院行进一步治疗. 在我科给予无渣流质饮食, 每天给予口服甲泼尼龙片16 mg及沙利度胺片50 mg, 并辅以保护胃黏膜药物及钙片治疗, 肠瘘口给予滴水双套管持续冲洗, 瘘口逐渐关闭, 1 wk前患者肠瘘治愈出院, 并嘱规律服药控制BD, 目前患者正在随访中.

2 讨论

2.1 发病原因及临床、病理表现 BD是由土耳其医生Behcet于1937年首次报道的, 是一种慢性并累及全身性的血管性疾病, 目前多认为是一种基于遗传易感性并由感染或其他环境因素诱发的自身免疫性疾病. 除口、眼、生殖器损害外, 此病还可导致关节、皮肤、心、肺、血管、神经系统、消化系病变, 临床可分为血管型、神经型和肠型等. 以消化系损害为主要表现时称为肠型BD, 10%-50%BD有肠型表现, 常在BD发病后4.0-6.0年出现, 可累及从口腔到肛门的全消化系, 病变主要以单发或多发溃疡为主, 溃疡过深及反复发作可继发胃肠道穿孔和消化道出血等. 病理改变主要以侵蚀小动脉、小静脉及微血管为主, 病损的血管和周围组织中可见到淋巴细胞和单核细胞浸润、血管壁坏死、扩张、破裂, 腔内血栓形成或纤维增生造成管腔狭窄.

2.2 鉴别诊断 本病的肠型极易误诊, 大多数患者伴发肠穿孔时急症入院, 临床表现与急性阑尾炎伴穿孔相似, 术中探查阑尾正常, 可于回盲部发现穿孔部位, 术后吻合口愈合困难, 易发生肠瘘. 另外, 本病还应跟其他一些以右下腹痛为主要临床表现的疾病相鉴别, 如克罗恩病、肠结核、缺血性肠炎、结肠憩室炎等[1].

2.3 治疗 本病伴发穿孔时, 外科手术为主要治疗手段, 常用手术方式为穿孔修补术、回盲部切除术、右半结肠切除术等. 但无论选择何种手术方式, 均易再次发生肠瘘, 所以术中引流管的放置十分重要, 建议滴水双套管引流, 术后积极营养支持治疗. 内科治疗分为局部治疗和全身治疗, 局部治疗主要针对以皮肤黏膜溃疡为主要表现者, 全身治疗主要针对有神经、大血管及肠道病变的患者, 常用药物为糖皮质激素、非甾体抗炎药、免疫抑制剂等, 另外, 严重的口腔或生殖器溃疡可加用沙利度胺. 有学者强调早期手术的必要性[2], 但我们在临床上总结, 手术时机的选择十分重要, 过分强调手术容易造成疾病的迁延不愈, 只有做到“因人制宜”, 才能达到最佳治疗效果.

总之, BD是一种病程迁延、多脏器受累的全身性疾病, 当伴发肠穿孔时极易发生误诊. 所以, 完善的辅助检查及仔细的体格检查尤为重要, 手术时合理制定手术方案, 通畅引流, 术后进行适当的内科治疗, 对患者进行长期随访.

■创新盘点

BD的诊断极易发生误诊, 本文结合1例以自发性肠多发溃疡并穿孔为主要表现的肠型BD对肠型BD的临床病理特点及诊断治疗进行总结, 对临床有一定指导作用.

3 参考文献

1 Jung YS, Cheon JH, Park SJ, Hong SP, Kim TI, Kim

■同行评价
该病历罕见, 相关病例记录完整, 有一定指导意义.

WH. Long-term clinical outcomes of Crohn's disease and intestinal Behcet's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2013; 19: 99-105 [PMID: 22508364 DOI: 10.1002/ibd.22991]

2 Jung YS, Hong SP, Kim TI, Kim WH, Cheon JH. Early versus late surgery in patients with intestinal Behçet disease. *Dis Colon Rectum* 2012; 55: 65-71 [PMID: 22156869 DOI: 10.1097/DCR.0b013e318238b57e]

编辑 田滢 电编 闫晋利

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

• 消息 •

WJG 成功通过评审被 PMC 收录

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

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

世界华人消化杂志 2013年4月28日; 21(12): Ⅰ-Ⅴ
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《世界华人消化杂志》投稿须知

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊.

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569)》是一份同行评议和开放获取期刊(Open Access Journal, OAJ), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版. 《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区.

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病学, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章. 最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病学实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平.

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group, BPG)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上. OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊. 论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本. BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑.目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平.

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录. 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号. 《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊.

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

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals). 见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47.

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称. 医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文. 公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录.

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等. 为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上. 中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤). 通常应小写.

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

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量. 如 30 kD改为M_r 30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即A_r(A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体). 计量单位在+、－及-后列出. 在±前后均要列出, 如37.6 ℃±1.2 ℃, 45.6岁±24岁, 56.4 d±0.5 d. 3.56±0.27 pg/ml应为3.56 ng/L±0.27 ng/L. BP用kPa(mmHg), RBC数用1×10^{12}/L, WBC数用1×10^{9}/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. M_r明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm×6 cm×4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO_2结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1×10^{-3} g与5×10^{-7} g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg•d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO_2, 50 mL/L CO_2; 1∶1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45×10^{-6}; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示.

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ^2; (4)样本的

相关系数用英文小写r; (5)自由度用希文小写υ; (6)样本数用英文小写n; (7)概率用英文斜体大写P. 在统计学处理中在文字叙述时平均数±标准差表示为mean±SD, 平均数±标准误为mean±SE. 统计学显著性用$^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套P值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第三套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L±0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6 347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的mean±SD应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g±420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg±0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm±0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48→23.5→24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母≤100, 百分数到个位; 101≤分母≤1 000, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名，按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wcjd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版.

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致.

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号. 格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”.

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码. 例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致.

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象. 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度. 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征. 如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准. 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写*P*, 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值).

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 正文内序号连排用(1), (2), (3). 以下逐条陈述.

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系.

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可.

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论.

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾.

图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …. 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: $^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第3套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$. *P*值后注明何种检验及其具体数字, 如$P<0.01$, $t = 4.56$ *vs* 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用*t*/min, *c*/(mol/L), *p*/kPa, *V*/mL, *t*/℃表达.

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上

角注码号. 如马连生[1]报告……, 潘伯荣等[2-5]认为……; PCR方法敏感性高[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部),书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp

4.2 研究原著写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp

4.3 焦点论坛写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp

4.4 文献综述写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp

4.5 研究快报写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp

4.6 临床经验写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcjy.asp

4.7 病例报告写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx. 无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投稿须知下载网址http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf. 审稿过程平均时间需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审.

6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删节时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有.

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

http: //www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进.

世界华人消化杂志 2013年4月28日; 21(12): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26
美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会
会议地点: 美国旧金山
联系方式: www.gicasym.org

2013-02-10/15
2013年肠道微生物组: 免疫网络效应/法规Keystone Symposia会议
会议地点: 美国
联系方式: info@keystonesymposia.org

2013-02-09/12
美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周(CNW 2013)
会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城
联系方式: http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508

2013-02-22/23
国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会
会议地点: 美国休斯顿
联系方式: http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1]

2013-02-22/23
迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议
会议地点: 美国
联系方式: cme.med.miami.edu/x88.xml

2013-03-01/31
2013年北京第七届疝和腹壁外科国际学术研讨会
会议地点: 北京市
联系方式: zhshfbwkzz@yahoo.com.cn

2013-03-01/04
2013加拿大消化疾病周(CDDW)
会议地点: 加拿大
联系方式: www.cag-acg.org/cddw

2013-03-07/10
亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议
会议地点: 新加坡
联系方式: www.apaslconference.org

2013-03-15/17
2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛
会议地点: 深圳市
联系方式: ewancool@hotmail.com

2013-03-14/16
中部外科学会(CSA)2013年会
会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛
联系方式: http://www.centralsurg.org/meeting/futuremtgs.html

2013-04-12/14
2013中国肛肠创新论坛(CICS)
会议地点: 北京市
联系方式: www.crdinnovation.com

2013-04-19/23
2013第2届国际肿瘤学论坛
会议地点: 瑞士
联系方式: cihexpo@163.com

2013-05-23/25
2013第六届世界癌症大会
会议地点: 西安市
联系方式: bithuiyi@163.com

2013-05-20/22
2013年第三届内分泌与代谢大会
会议地点: 西安市
联系方式: nancy@bitconferences.cn

2013-05-31/06-04
2013美国临床肿瘤协会年会
会议地点: 美国芝加哥
联系方式: yangxinxue999@163.com

2013-06-07/09
中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤营养与支持治疗学术会议
会议地点: 武汉市
联系方式: csonsc@VIP.163.com

2013-06-21/23
中国消化科学术论坛
会议地点: 张家界市
联系方式: casgmail@126.com

2013-07-13/14
中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会
会议地点: 银川市
联系方式: lilyjia@163.com

2014-09-26/30
第39届欧洲临床肿瘤学会年会
会议地点: 西班牙
联系方式: http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html

2013-10-18/20
第二十二届亚太抗癌大会
会议地点: 天津市
联系方式: secretariat@apcc2013.com

世界华人消化杂志 2013年4月28日; 21(12): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

杜奕奇 副教授
中国人民解放军第二军医大学长海医院

樊红 教授
东南大学基础医学院遗传与发育生物学系

冯志杰 主任医师
河北医科大学第二医院消化内科

傅思源 副教授
东方肝胆外科医院肝外三科

韩天权 教授
上海交通大学医学院附属瑞金医院外科, 上海消化外科研究所

何向辉 教授
天津医科大学总医院普通外科

黄志勇 教授
华中科技大学同济医院普外科

金瑞 教授
首都医科大学附属北京佑安医院消化科

姜波健 教授
上海交通大学医学院附属第三人民医院普通外科

姜慧卿 教授
河北医科大学第二医院消化科

郝立强 副教授
上海长海医院普外二科

何松 教授
重庆医科大学附属第二医院

李革 副教授
延边大学附属医院

李升平 教授
中山大学肿瘤医院肝胆科

李志霞 教授
首都医科大学附属北京同仁医院普外科

林志辉 教授
福建省立医院消化内科

倪才方 教授
苏州大学附属第一医院介入科

彭宗根 副研究员
中国医学科学院北京协和医学院医药生物技术研究所

邱伟华 主任医师
上海交通大学医学院附属瑞金医院普外科

秦春宏 副主任医师
南华大学附属第二医院普外科

孙文兵 教授
首都医科大学附属北京朝阳医院肝胆胰脾外科

汤华 研究员
重庆医科大学感染性疾病分子生物学教育部重点实验室

王道荣 主任医师
江苏省苏北人民医院胃肠外科

王文跃 主任医师
中日友好医院普通外科

魏睦新 教授
南京医科大学第一附属医院

许剑民 教授
复旦大学附属中山医院普外科

袁建业 副研究员
上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

张占卿 主任医师
上海市复旦大学公共卫生中心肝脏病学、传染病学

张志坚 教授
福州总医院消化内科

周国雄 主任医师
南通大学附属医院消化内科

世界华人消化杂志
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《**世界华人消化杂志**》入编《中文核心期刊要目总览》2011 年版（即第六版）之 **临床医学/特种医学类** 的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了 73 个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN 号、CN 号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被索量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web 下载量等 9 个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到 60 余种，统计到的文献数量共计 221177 余万篇次，涉及期刊 14400 余种。参加核心期刊评审的学科专家达 8200 多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出 1982 种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂

撰安

《中文核心期刊要目总览》2011 年版编委会

代章：

2012 年 1 月





百世登

Baishideng®

Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,
315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com



 © 2013 Baishideng. All rights reserved.

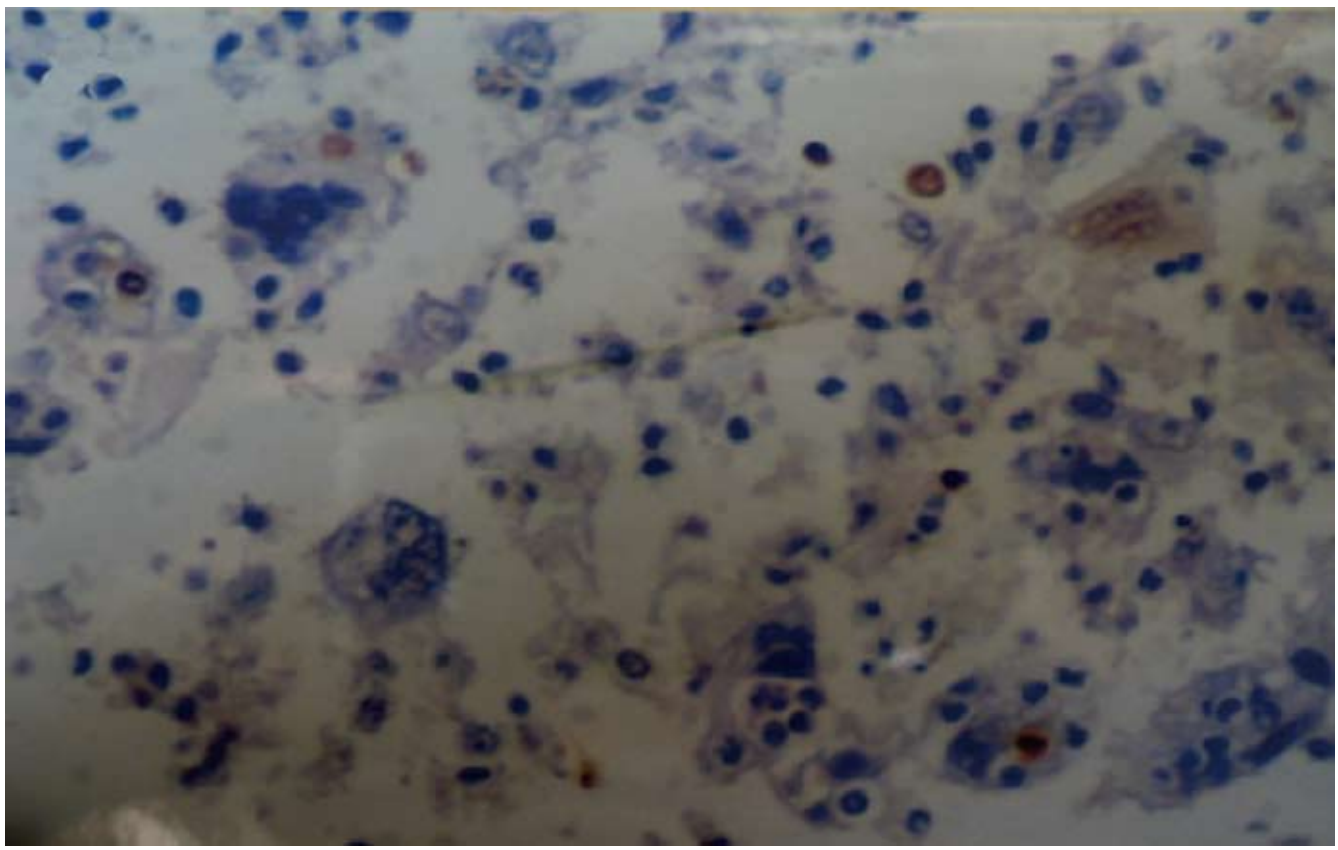
ISSN 1009-3079 (print)
ISSN 2219-2859 (online)

世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2013 年 5 月 8 日　　第 21 卷　　第 13 期　(Volume 21 Number 13)



13/2013

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

ISSN 1009-3079
13>
9 771009 307056

世界华人消化杂志
www.wjgnet.com
二零一三年五月八日
第二十一卷
第十三期

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31
wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

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

总顾问

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

名誉主编

潘伯荣教授

主编

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

编委

消化内科学

白爱平副教授
白岚教授
卜平教授
陈国忠主任医师
陈洪副教授
陈其奎教授
陈卫昌教授
陈贻胜教授
程斌教授
迟宝荣教授
崔立红教授
邓鑫教授
丁士刚教授
董蕾教授
杜雅菊主任医师
杜奕奇副教授
樊冬梅副主任医师
樊晓明教授
房静远教授
冯志杰主任医师
傅春彬主任医师
甘华田教授
高凌副教授
戈之铮教授
关玉盘教授
关晓辉主任医师
郭晓钟教授
郝建宇教授
郝丽萍副教授
何继满教授
何松教授
洪天配教授
黄培林教授
黄晓东主任医师
黄颖秋教授
黄缘教授
季国忠教授
江米足教授
姜春萌教授
姜慧卿教授
姜相君主任医师
金瑞教授
蓝宇教授
李淑德教授
李瑜元教授
李玉民教授
廖家智副主任医师
林志辉教授
刘冰熔教授
刘凤斌教授
刘改芳主任医师
刘海峰主任医师
刘海林主任医师
刘亮明副教授
陆伦根教授
马红主任医师
马欣主任医师
毛恩强教授
毛高平教授
孟庆华教授
缪应雷主任医师
倪润洲教授
欧希龙副教授
潘秀珍教授
潘阳林副教授
朴云峰教授
秦成勇教授
任粉玉教授
任建林教授
邵先玉教授
沈琳主任医师
沈薇教授
施瑞华教授
宋军副教授
唐世刚教授
田宇彬教授
度必光教授
宛新建副教授
王邦茂教授
王炳元教授
王承党教授
王江滨教授
王俊平教授
王蔚虹教授
王晓艳副教授
夏冰教授
夏时海副教授
徐灿霞教授
徐可树教授
杨建民教授
张国主任医师
姚树坤教授
张国梁主任医师
张军教授
张庆瑜教授
张小晋主任医师
张筱茵副教授
张志坚教授
郑培永教授
郑鹏远教授
郑素军副主任医师
郑勇教授
周国雄主任医师
周宇教授
邹晓平主任医师
诸琦教授
于珮主任医师

消化外科学

白雪副主任医师
白雪巍副主任医师
白玉作教授
蔡开琳副教授
蔡三军主任医师
曹杰主任医师
陈炳官教授
陈光教授
陈海龙教授
陈积圣教授
陈进宏副主任医师
陈凛教授
陈汝福教授
陈亚军主任医师
陈钟教授
程爱国教授
程树群副教授
崔云甫教授
戴朝六教授
戴冬秋教授
丁义涛教授
杜顺达副教授
房林教授
傅红副教授
傅华群教授
傅思源副教授
傅晓辉副教授
傅志仁主任医师
高毅主任医师
葛海燕教授
巩鹏副教授
谷俊朝主任医师
顾国利副主任医师
顾岩教授
韩天权教授
郝纯毅主任医师
郝立强副教授
何超教授
何向辉教授
何晓顺教授
何裕隆教授
胡安斌副教授
黄志勇教授
季加孚教授
英卫东教授
姜波健教授
金山主任医师
康春博副主任医师
孔静副教授
黎乐群教授
李革副教授
李国威教授
李华副教授
李华山主任医师
李升平教授
李胜研究员
李涛副主任医师
李文岗教授
李小荣教授
李旭副教授
李永翔教授
李正荣副教授
李志霞教授
李宗芳教授
梁力建教授
刘宝林教授
刘超教授
刘宏鸣副教授
刘建教授
刘亮副主任医师
刘颖斌主任医师
卢军华教授
陆云飞教授
禄韶英副教授
吕凌副教授
吕云福教授
麻勇副研究员
齐清会教授
秦春宏副主任医师
秦华东教授
秦环龙教授
秦建民主任医师
邱伟华主任医师
仇毓东教授
崔清波副教授
单云峰副主任医师
沈柏用副教授
施宝民教授
施诚仁教授
施晓雷副主任医师
石毓君副研究员
宋新明教授
宋振顺教授
孙诚谊教授
孙文兵教授
孙星副教授
孙学英教授
邰升副教授
谭晓冬教授
汤朝晖副主任医师
汤绍涛教授
唐南洪教授

世界华人消化杂志®

编辑委员会

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

消化感染病学

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

消化中医药学

陈治水主任医师
杜群副研究员
扈晓宇主任医师
黄恒青主任医师
李军祥教授
李康副教授
李晓波教授
李勇副教授
李振华教授
刘成海研究员
刘绍能主任医师
鲁玉辉副教授
南极星教授
牛英才研究员
谭周进教授
王富春教授
王来友副教授
王笑民主任医师
邢建峰副教授
徐列明教授
许玲教授
徐庆教授
袁红霞研究员
张声生教授

消化肿瘤学

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

消化影像学

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

消化内镜及介入治疗学

郝俊鸣副主任医师
李家平教授
刘杰民副主任医师
茅爱武教授
孙明军教授
万军教授
吴沛宏教授
余日胜主任医师
袁友红副教授
张火俊副教授

消化中西医结合学

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

消化基础研究

曹洁副教授
曹鹏副研究员
陈敬贤教授
陈志龙教授
崔莲花副教授
段义农教授
樊红教授
高国全教授
高英堂研究员
管冬元副教授
郭长江研究员
郭俊明教授
何红伟副研究员
何敏教授
黄昆教授
黄文林教授
黄园教授
洪艳教授
李刚教授
李君文研究员
李孟森教授
李文贵副教授
李焱副研究员
李增山副教授
刘长征副教授
刘克辛教授
刘森副教授
宁钧宇副研究员
彭宗根副研究员
任超世研究员
任浩副教授
任晓峰副教授
邵华副主任药师
沈东炎副教授
沈涛副教授
斯坎德尔·白克力教授
台桂香教授
谭学瑞教授
汤静主管药师
滕旭副教授
田文静副教授
汪思应教授
王钦红教授
王书奎教授
魏继福研究员
文彬研究员
吴道澄教授
吴江锋副教授
吴军研究员
吴俊华副教授
吴志强副教授
夏敏教授
徐健副主任医师
徐宁志研究员
许文燮教授
杨晓明教授
阴赪宏研究员
郁卫东副研究员
喻荣彬教授
曾柱教授
张红教授
张淑坤副研究员
赵平教授
赵铁建教授
周南进研究员
周素芳教授
周晓武副主任医师
朱益民教授
竺亚斌研究员

消化病理学

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

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目　次 ●　2013 年 5 月 8 日　第 21 卷　第 13 期　(总第417期)

基础研究

1159 三氧化二砷粉针剂联合重组腺病毒介导的IκBαM治疗肝癌
杨雅雯, 刘丹, 刘婷, 胡丽红, 杜雅菊, 刘冰熔

1164 Delta阿片受体、β-arrestin1、Bcl-2在溃疡性结肠炎大鼠脾脏组织中的表达及乌梅丸的干预作用
柯琴梅, 吴霖, 范恒

1171 从溃疡性结肠炎大鼠肺损伤细胞凋亡机制探讨“肺与大肠相表里”
盛益华, 王新月, 闫昕, 朱立, 张良登

临床研究

1178 肝硬化并产超广谱β内酰胺酶大肠埃希菌感染的抗生素治疗
刘钰佩, 梁树人, 郭朝辉, 李顺天, 李嘉

文献综述

1185 Th17细胞与肝脏疾病关系的研究进展
薛芝敏, 姚冬梅

1191 VEGF与肝脏疾病的关系
阮四军, 邬林泉, 周凡

1197 肛裂治疗方式的选择
邓志灏, 赵宝明

研究快报

1205 活化大鼠肝星状细胞新表达甘丙肽2型受体拮抗甘丙肽增殖抑制作用
丁永年, 李郑红, 徐雷鸣, 熊静平, 陈源文, 范建高

1211 N-乙酰半胱氨酸在减轻大鼠重症急性胰腺炎肠损伤中的作用
牛天平, 王映珍, 曹云华, 王军, 李自力, 肖文, 张有成, 王世文

1218 胰腺癌干细胞差异基因的表达及生物信息学分析
江建新, 高珊, 王敏, 李旭, 孙诚谊

1226 戊己丸不同配伍方对炎症后肠易激综合征模型大鼠结肠运动及5-羟色胺含量的影响
王迎寒, 周淑媛, 王娅杰, 巩仔鹏, 杨庆, 阚晓溪, 阮从潇, 张瑞杰, 朱晓新

1234 肠吉泰对腹泻型肠易激综合征大鼠下丘脑、结肠P物质mRNA表达的影响
丛军, 蔡淦, 林江, 张正利

1239 叶黄素对人结肠癌HT29细胞增殖的抑制及其机制
付蕾, 陈晓哲, 张慧娟, 张源渊, 王凌飞, 徐少博, 张玉杰, 王明臣

临床经验

1245 老年胃食管反流病患者食道动力及胃食管反流的特点
孙莎莎, 张琪, 赵坤, 张翠萍, 田宇彬

1250 正常胃黏膜菌群特征分析2例
王莉莉, 董开芯, 周建华, 于新娟, 贾盛佼, 董全江

1256 青年男性血清脂联素与非酒精性脂肪性肝炎的关系
张璐, 张琦, 方言, 朱奎轩, 李珍

1261 中国人肝淀粉样变性的临床特点
王慧慧, 田宇彬, 丁雪丽, 荆雪, 孔心娟, 张翠萍, 魏良洲, 赵清喜

1266 γ-射线立体定向体部放射治疗局限期胰腺癌65例
康晓黎, 王颖杰, 邵银剑, 李宏奇, 李平, 王济东, 王轩, 夏廷毅

附　　录	Ⅰ-Ⅴ　《世界华人消化杂志》投稿须知 Ⅰ　2013年国内国际会议预告
志　　谢	Ⅰ　志谢世界华人消化杂志编委
消　　息	1184　中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 1190　《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 1196　《世界华人消化杂志》栏目设置 1204　中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 1210　《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 1233　《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 1244　《世界华人消化杂志》正文要求 1249　《世界华人消化杂志》外文字符标准 1260　《世界华人消化杂志》参考文献要求 1265　《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
封面故事	杨雅雯, 刘丹, 刘婷, 胡丽红, 杜雅菊, 刘冰熔. 三氧化二砷粉针剂联合重组腺病毒介导的IκBαM治疗肝癌. 世界华人消化杂志 2013; 21(13): 1159-1163 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1159.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i13.1159
本期责任人	编务 马帅; 送审编辑 鲁亚静, 闫晋利; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 黄新珍; 形式规范审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平　题写封面刊名
陈可冀　题写版权刊名
(旬刊)

创　刊 1993-01-15
改　刊 1998-01-25
出　版 2013-05-08
原刊名 新消化病学杂志

期刊名称
世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

主编
程英升, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心
党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科
江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科
刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科
刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科
吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科
马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科
王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科
姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心
张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部
田滢, 主任
《世界华人消化杂志》编辑部
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室
电话: 010-59080035
传真: 010-85381893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

出版
百世登出版集团有限公司
Baishideng Publishing Group Co., Limited
Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

制作
北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室
电话: 010-85381892
传真: 010-85381893

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

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

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

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

定价
每期68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归Baishideng所有

World Chinese Journal of Digestology

May 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 13

BASIC RESEARCH

1159 Inhibitory effect of As_2O_3 combined with adenovirus carrying IκBαM on proliferation of liver cancer cells *in vitro* and *in vivo*
Yang YW, Liu D, Liu T, Hu LH, Du YJ, Liu BR

1164 Wumeiwan treatment alters the expression of delta-opioid receptor, β-arrestin1 and Bcl-2 in the spleen tissue of rats with ulcerative colitis
Ke QM, Wu J, Fan H

1171 Discussion on theory of the lung and the large intestine being interior-exteriorly related from mechanism of apoptosis in lung injury in rats with ulcerative colitis
Sheng YH, Wang XY, Yan X, Zhu L, Zhang LD

CLINICAL RESEARCH

1178 Antibiotic application in cirrhotic patients with extended-spectrum β-lactamase producing *E. coli* infection
Liu YP, Liang SR, Guo ZH, Li ST, Li J

REVIEW

1185 Th17 cells and liver diseases
Xue ZM, Yao DM

1191 Relationship between vascular endothelial growth factors and liver diseases
Ruan SJ, Wu LQ, Zhou F

1197 Choice of treatments for anal fissure
Deng ZH, Zhao BM

RAPID COMMUNICATION

1205 Newly expressed galanin type 2 receptor suppresses proliferation of activated hepatic stellate cells
Ding YN, Li ZH, Xu LM, Xiong JP, Chen YW, Fan JG

1211 N-acetylcysteine ameliorates severe acute pancreatitis-associated intestinal injury in rats
Niu TP, Wang YZ, Cao YH, Wang J, Li ZL, Xiao W, Zhang YC, Wang SW

1218 Identification and bioinformatic analysis of differentially expressed genes in pancreatic cancer stem cells
Jiang JX, Gao S, Wang M, Li X, Sun CY

1226 Influence of Wuji Wan in different compatibilities on colonic motility and 5-hydroxytryptamine contents in rats with post-infectious irritable bowel syndrome
Wang YH, Zhou SY, Wang YJ, Gong ZP, Yang Q, Kan XX, Ruan CX, Zhang RJ, Zhu XX

1234 Effect of Changjitai decoction on expression of substance P mRNA in the colonic mucosa and hypothalamus of rats with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome
Cong J, Cai G, Lin J , Zhang ZL

1239 Mechanisms underlying suppressive effect of lutein on cell proliferation in human colon cancer cell line HT29
Fu L, Chen XZ, Zhang HJ, Zhang YY, Wang LF, Xu SB, Zhang YJ, Wang MC

CLINICAL PRACTICE

1245 Characteristics of esophageal motility and esophageal acid exposure in elderly patients with gastroesophageal reflux disease
Sun SS, Zhang Q, Zhao K, Zhang CP, Tian ZB

1250 454-pyrosequencing analysis of normal gastric mucosal microbiota
Wang LL, Dong KX, Zhou JH, Yu XJ, Jia SJ, Dong QJ

1256 Relationship between serum adiponectin and non-alcoholic steatohepatitis in young men
Zhang L, Zhang Q, Fang Y, Zhu KX, Li Z

1261 Clinical characteristics of hepatic amyloidosis in Chinese patients
Wang HH, Tian ZB, Ding XL, Jing X, Kong XJ, Zhang CP, Wei LZ, Zhao QX

1266 Efficacy and toxicity of γ-ray stereotactic body radiation therapy in management of locally advanced pancreatic carcinoma: Our experience with 65 cases
Kang XL, Wang YJ, Shao YJ, Li HQ, Li P, Wang JD, Wang X, Xia TY

APPENDIX	I – V Instructions to authors of *World Chinese Journal of Digestology* I Meeting events calendar in 2013
ACKNOWLEDGMENT	I Acknowledgments to reviewers of *World Chinese Journal of Digestology*
COVER	*Yang YW, Liu D, Liu T, Hu LH, Du YJ, Liu BR*. Inhibitory effect of As_2O_3 combined with adenovirus carrying IκBαM on proliferation of liver cancer cells *in vitro* and *in vivo*. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(13): 1159-1163 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1159.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i13.1159
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: *Shuai Ma* Review Editor: *Ya-Jing Lu, Jin-Li Yan* Electronic Page Editor: *Ya-Jing Lu* English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Editor-in-Charge: *Xin-Zhen Huang* Proof Editor: *Ying Tian* Layout Editor: *Lian-Sheng Ma*

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

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date May 8, 2013

NAME OF JOURNAL
World Chinese Journal of Digestology

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

EDITOR-IN-CHIEF
Ying-Sheng Cheng, Professor, Medical Imaging Center, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China
Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China
Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China
Lian-Xin Liu, Professor, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China
Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China
Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hang-zhou 310006, Zhejiang Province, China
Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China
Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China
Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China
Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

EDITORIAL OFFICE
Ying Tian, Director
World Chinese Journal of Digestology
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-59080035
Fax: +86-10-85381893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

PUBLISHER
Baishideng Publishing Group Co., Limited
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,
315-321 Lockhart Road, Wan Chai,
Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188
E-mail: bpg@baishideng.com
http://www.wjgnet.com

PRODUCTION CENTER
Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu,
Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-85381892
Fax: +86-10-85381893

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

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

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

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2013年5月8日; 21(13): 1159-1163
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

三氧化二砷粉针剂联合重组腺病毒介导的IκBαM治疗肝癌

杨雅雯, 刘 丹, 刘 婷, 胡丽红, 杜雅菊, 刘冰熔

杨雅雯, 刘丹, 刘婷, 胡丽红, 杜雅菊, 刘冰熔, 哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科 黑龙江省哈尔滨市 150086
杨雅雯, 硕士, 主治医师, 主要从事消化系肿瘤的基础及临床研究.
哈尔滨市科技计划基金资助项目, No. 2004AA9CS196-13
作者贡献分布: 此课题由刘冰熔与杜雅菊设计与指导; 研究过程由杨雅雯、刘婷及胡丽红共同完成; 数据分析由刘丹完成; 刘丹完成论文撰写; 由刘冰熔审校.
通讯作者: 刘冰熔, 教授, 主任医师, 博士生导师, 150086, 黑龙江省哈尔滨市南岗区学府路246号, 哈尔滨医科大学第二附属医院消化内科. liubingrong@medmail.com.cn
电话: 0451-86605980 传真: 0451-86605980
收稿日期: 2013-02-07 修回日期: 2013-03-07
接受日期: 2013-03-29 在线出版日期: 2013-05-08

Inhibitory effect of As_2O_3 combined with adenovirus carrying IκBαM on proliferation of liver cancer cells *in vitro* and *in vivo*

Ya-Wen Yang, Dan Liu, Ting Liu, Li-Hong Hu, Ya-Ju Du, Bing-Rong Liu

Ya-Wen Yang, Dan Liu, Ting Liu, Li-Hong Hu, Ya-Ju Du, Bing-Rong Liu, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China
Supported by: the Science and Technology Project of Harbin City, No. 2004AA9CS196-13
Correspondence to: Bing-Rong Liu, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, 246 Xuefu Street, Nangang District, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. liubingrong@medmail.com.cn
Received: 2013-02-07 Revised: 2013-03-07
Accepted: 2013-03-29 Published online: 2013-05-08

Abstract

AIM: To analyze the inhibitory effect of arsenic trioxide (As_2O_3) combined with adenovirus carrying IκBαM (Ad-IκBαM) on proliferation of liver cancer cells *in vitro* and *in vivo*.

METHODS: The effect of As_2O_3 combined with Ad-IκBαM on liver cancer cell growth was assessed by MTT assay. Wistar rats were treated with diethylnitrosamine (DENA) for about 16 wk to induce liver cancer. The index of apoptosis was assessed by TUNEL assay.

RESULTS: As_2O_3 induced cellular toxicity in a dose- and time-dependent fashion in SMMC-7721 cells. MTT assay showed that the proliferation of SMMC-7721 cells was most significantly suppressed by As_2O_3 at a dose of 16 μmol/L, and the reduced rate of cell proliferation was 17.7% ± 5.3%, 40.7% ± 2.5% and 62.8% ± 5.4% at 48, 72 and 96 h, respectively. The reduced rate of cell proliferation at 72 and 96 h in cells treated with 16 μmol/L As_2O_3 and Ad-IκBαM was 68.3% ± 2.1% and 81.9% ± 3.0%, significantly higher than those in other groups (all $P < 0.01$). DENA treatment successfully induced tumors in rats at week 16. There was no significant difference in life span of liver cancer-bearing rats among each group. TUNEL assay demonstrated that treatment with As_2O_3 and Ad-IκBαM greatly enhanced apoptotic cell death.

CONCLUSION: Ad-IκBαM has a synergistic effect with As_2O_3 in inhibiting liver cancer cell proliferation *in vitro* and *in vivo*.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Ad-IκBαM; Arsenic trioxide; Gene therapy; Liver cancer

Yang YW, Liu D, Liu T, Hu LH, Du YJ, Liu BR. Inhibitory effect of As_2O_3 combined with adenovirus carrying IκBαM on proliferation of liver cancer cells *in vitro* and *in vivo*. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(13): 1159-1163
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1159.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i13.1159

摘要

目的: 探讨三氧化二砷(arsenic trioxide, As_2O_3)粉针剂联合重组腺病毒介导的IκBαM抑制肝癌细胞增殖及对大鼠肝癌的治疗效果.

方法: MTT法检测不同浓度As_2O_3联合Ad-IκBαM对肝癌细胞增殖的抑制作用. 探讨体内As_2O_3联合Ad-IκBαM对二乙基亚硝胺诱发的大鼠肝癌的抑制作用, 并应用TUNEL法检测各处理组肝癌的凋亡指数.

结果: As_2O_3处理肝癌细胞SMMC-7721的细胞毒作用存在剂量依赖性以及时间依赖性, 16 μmol/L的As_2O_3抑制率最高, 48、72、96 h

■背景资料
三氧化二砷(arsenic trioxide, As_2O_3)是中国传统医药“砒霜”的活性成分, 能够诱导多种实体瘤细胞和白血病细胞的凋亡. 本文将As_2O_3粉针剂与腺病毒介导的核因子(nuclear factor-κB, NF-κB)超抑制物IκBαM联合应用于肝癌治疗, 观察其对肝癌增殖及凋亡的影响.

■同行评议者
施晓雷, 副主任医师, 南京大学医学院附属鼓楼医院

■研发前沿
肝癌是严重威胁人类生命的恶性肿瘤之一, 近年来肝癌的治疗模式逐渐向多元化发展, 除占有重要地位的化疗, 基因治疗也成为具有广泛应用前景的治疗手段之一.

分别为17.7%±5.3%、40.7%±2.5%、62.8%±5.4%. 16 μmol/L As_2O_3联合转染Ad-IκBαM处理组在72 h和96 h, 对肝癌细胞抑制率分别为68.3%±2.1%和81.9%±3.0%, 显著高于16 μmol/L As_2O_3联合Ad-IκBα组(*P*值分别为0.004). 二乙基亚硝胺于第16周诱发大鼠肝癌, 成瘤率约达80%. 各处理组成瘤大鼠(包括无菌生理盐水组、As_2O_3组、As_2O_3+Ad-IκBα组以及As_2O_3+Ad-IκBαM组)的生存期无明显差别. As_2O_3联合Ad-IκBαM处理组肝癌的凋亡率较其他处理组均显著增高.

结论: 腺病毒介导的IκBαM与As_2O_3具有协同作用, 转染Ad-IκBαM可以明显增强As_2O_3的抑制肝癌细胞增殖作用以及体内抑瘤作用.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: Ad-IκBαM; 三氧化二砷; 基因治疗; 肝癌

核心提示: 腺病毒介导的IκBαM与三氧化二砷(arsenic trioxide, As_2O_3)具有协同作用, 转染重组腺病毒-IκBαM可以明显增强As_2O_3的抑制肝癌细胞增殖作用以及体内抑瘤作用.

杨雅雯, 刘丹, 刘婷, 胡丽红, 杜雅菊, 刘冰熔. 三氧化二砷粉针剂联合重组腺病毒介导的IκBαM治疗肝癌. 世界华人消化杂志 2013; 21(13): 1159-1163 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1159.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i13.1159

0 引言

细胞核因子-κB(nuclear factor-κB, NF-κB)是一种广泛存在于细胞中的具有多向调节作用的蛋白质因子, 是恶性肿瘤抗凋亡的重要机制之一[1,2]. 三氧化二砷(arsenic trioxide, As_2O_3)在肿瘤治疗中的研究, 已经从血液系统肿瘤扩展到实体瘤, 研究表明As_2O_3可选择性抑制多种人类肿瘤细胞生长, 诱导肿瘤细胞凋亡与分化[3-8]. 在前期工作中, 我们用已经克隆成功的中国人IκBα基因定点诱变构建成NF-κB超抑制物IκBαM, 并在此基础上应用最新的腺病毒构建系统构建成重组腺病毒-IκBαM(adenovirus carrying-IκBαM, Ad-IκBαM)以及对照组腺病毒Ad-IκBα[9]. 本研究中我们应用粉针剂As_2O_3联合Ad-IκBαM进行肝癌的治疗研究, 为今后的肝癌基因治疗打下坚实的基础.

1 材料和方法

1.1 材料 人肝癌细胞系SMMC-7721、人胚肾细胞系293T均购自中科院上海细胞所细胞库; 试验动物是6周龄Wistar大鼠, 共25只, 均为♂, 体质量为110 g±10 g, 购自哈医大二院动物中心洁净动物房. 分析纯的As_2O_3粉针剂购自北京五七六零一化工厂; 二乙基亚硝胺(diethylnitrosamine, DENA)为Sigma公司产品, 用纯净水配制成95 mg/L溶液, 每日新鲜配制并避光保存; TUNEL细胞凋亡原位检测试剂盒购自Roche公司; NF-κB P65小鼠单克隆抗体(一抗)及鼠SP免疫组织化学染色试剂盒均购自北京中山金桥生物技术有限公司.

1.2 方法

1.2.1 重组腺病毒的构建: 含Ser32和36位丝氨酸定点诱变为丙氨酸的中国人IκBα基因编码区cDNA序列并表达绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)的Ad-IκBαM、含未突变的中国人IκBα基因并表达GFP的重组腺病毒Ad-IκBα, 均系刘冰熔博士构建[9].

1.2.2 试验动物及动物模型制备: 试验动物随机分笼饲养, 每笼5只, 每日正常饲料喂饲, 将每日新鲜配制的DENA水溶液(浓度为95 mg/L)按每只大鼠20 mL/d药液饮饲(饮饲容器用避光容器). 所有动物均在相同条件下饲养.

1.2.3 肝癌细胞的体外增殖试验: 采用四甲基偶氮唑盐(MTT)方法检测, 取对数生长期人肝癌细胞系SMMC-7721分别转染实验组腺病毒Ad-IκBαM(2.0×10^8 pfu)和对照组腺病毒Ad-IκBα(2.0×10^8 pfu). 转染后24 h将各组细胞接种于96孔板中, 每组设6个复孔, 1000-2000个细胞/孔, 待细胞贴壁后分别加入不同浓度三氧化二砷使之终浓度为0、2、4、8和16 μmol/L. 分别取4个时间点进行检测, 分别为24、48、72和96 h. 检测前首先更换培养液100 μL/孔在培养箱继续培养, MTT溶液10 mL/孔, 反应1 h后, 选择450 nm和630 nm双波长测定各孔的吸光度值.

1.2.4 成瘤大鼠的处理: 实验分As_2O_3联合Ad-IκBαM组(注入药物为As_2O_3 2.2 mg/kg、碘化油0.5 mL/kg、Ad-IκBαM 2.0×10^8 pfu); As_2O_3联合Ad-IκBα组(As_2O_3 2.2 mg/kg、碘化油0.5 mL/kg、Ad-IκBα 2.0×10^8 pfu); As_2O_3组(As_2O_3 2.2 mg/kg、碘化油0.5 mL/kg); 生理盐水对照组(等体积生理盐水). 术前大鼠禁食12 h, 采用10 mg/mL戊巴比妥钠(按大鼠体质量30 mg/kg)腹腔注射麻醉. 应用29 G胰岛素针经肝固有动脉注射各组药物. 将各组大鼠分笼饲养2 wk后麻醉处死取出肝脏, 10%中性甲醛固定, 脱水、石蜡包埋处理.

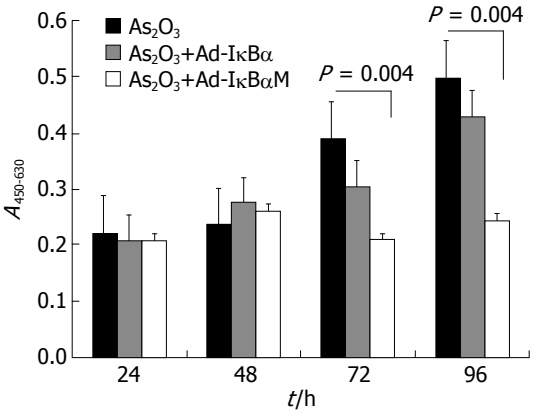


图 1 体外转染Ad-IκBαM抑制肝癌细胞SMMC-7721增殖. As_2O_3: 三氧化二砷.

1.2.5 免疫组织化学法检测NF-κB/P65的表达: 3%H_2O_2灭活、抗原修复、血清封闭、滴加1∶100稀释的一抗, 4 ℃过夜; PBS洗涤3次, 每次5 min; 滴加二抗, 室温静置1 h, PBS洗涤3次; DAB显色5-10 min, 自来水浸洗终止反应, 苏木素复染2 min后盐酸乙醇分化、氨水返蓝, 封片, 读片.

1.2.6 TUNEL法检测凋亡: 3%H_2O_2灭活阻断内源性辣根过氧化物酶, PBS洗2次, 每次5 min, 2×SSC中80 ℃浸泡20 min, PBS洗2次, 每次5 min; 蛋白酶K消化0-20 min; PBS洗2次, 每次5 min, TdT缓冲液孵育10 min, TdT反应液37 ℃孵育1 h; 2×SSC溶液浸泡10 min, 终止反应; PBS洗2次, 每次5 min; 链卵白素标记的辣根过氧化物酶孵育30 min, PBS洗2次, 每次5 min; DAB显色5-10 min, 苏木素复染3-5 min, 封片. 凋亡指数的计算: 随机计数高倍视野下细胞每100个细胞中的阳性细胞数.

统计学处理 数据结果均采用mean±SD表示, 组间差异显著性分析采用配对*t*检验, 应用SPSS10.0统计软件进行数据分析.

2 结果

2.1 MTT比色法测定As_2O_3联合Ad-IκBαM对肝癌细胞的抑制率 As_2O_3对肝癌细胞SMMC-7721增殖的抑制作用具有时间依赖性和浓度依赖性, 16 μmol/L的As_2O_3对肝癌细胞的抑制率最高, 48、72、96 h分别为17.7%±5.3%、40.7%±2.5%、62.8%±5.4%. 如图1所示, 在72 h和96 h时间点, 16 μmol/L As_2O_3联合转染Ad-IκBαM处理组吸光光度值显著低于16 μmol/L As_2O_3联合转染Ad-IκBα组, 前者抑制率分别为68.3%±2.1%和81.9%±3.0%, 二者比较具有显著统计学差异(*P*值均为0.004).

表 1 TUNEL方法检测不同处理组组织中肝癌细胞的凋亡百分率 (n = 5, %)

不同处理组	凋亡指数	*P*值
生理盐水	1.18 ± 0.32	0.009[a]
As_2O_3	4.64 ± 1.16	0.032[c]
As_2O_3 + Ad-IκBα	4.66 ± 1.75	0.032[e]
As_2O_3 + Ad-IκBαM	7.52 ± 1.59	

[a]*P*<0.05 *vs* As_2O_3 + Ad-IκBαM组; [c]*P*<0.05 *vs* As_2O_3 + Ad-IκBαM组; [e]*P*<0.05 *vs* As_2O_3 + Ad-IκBαM组. As_2O_3: 三氧化二砷.

2.2 DENA诱发大鼠肝癌 喂饮DENA 16 wk后大鼠开始出现精神萎靡, 活动减少, 进食饮水减少以及体质量下降, 大鼠肝脏表面粗糙并形成肿瘤(图2A), 成瘤率约为80%. 应用免疫组织化学方法检测各处理组肝癌中NF-κB/P65表达情况(图2C, D). 各处理组大鼠的生存期无显著差别.

2.3 TUNEL法检测各处理组肝癌组织中的凋亡情况 每个取材组织选取5个以上高倍视野, 每个视野计数100个细胞, 计算阳性细胞数(棕黄色)占全部细胞的百分数, 即凋亡指数(apoptosis index, AI)(图3, 表1).

3 讨论

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是严重威胁人类生命的恶性肿瘤之一, 我国每年约有11万人死于肝癌, 占全球肝癌死亡人数的45%. 尽管手术切除和肝移植是HCC首选治疗方式, 但多数患者诊断时已不具备手术适应症, 且术后肿瘤复发率高以及肝移植的高额医疗成本限制了其普遍应用. 近年来肝癌的治疗模式逐渐向多元化发展, 除占有重要地位的化疗外, 基因治疗也成为具有广泛应用前景的治疗手段之一[10].

As_2O_3是中国传统医药“砒霜”的活性成分, 能够诱导多种实体瘤细胞和白血病细胞的凋亡[11-14]. 与以往对As_2O_3的研究一致, 我们的研究结果表明, 体外培养基中As_2O_3的浓度在2 μmol/L以上就可抑制肝癌细胞SMMC-7721的生长, 并且随着剂量的增加其抑制作用显著增强, 此外As_2O_3对细胞增殖的抑制作用具有明显的时间依赖性.

许多抗癌药物以诱导细胞凋亡作为治疗肿瘤的机制之一, 但是肿瘤细胞往往对抗癌药物诱导的细胞凋亡产生耐药性, 从而削弱治疗的效果[15,16]. 大量研究表明, 肿瘤细胞核转录因子

■相关报道
研究表明, NF-κB一旦被激活可以诱导凋亡抑制基因表达, 对抗化疗药物引起的细胞凋亡, 造成肿瘤细胞的化疗抵抗. 因此, 抑制NF-κB通路的活化将在肿瘤治疗中发挥重要作用.

■创新盘点

As_2O_3和Ad-IκBαM联合无论在抑制肝癌细胞的增殖还是促进肿瘤细胞的凋亡方面均具有明显的协同作用.

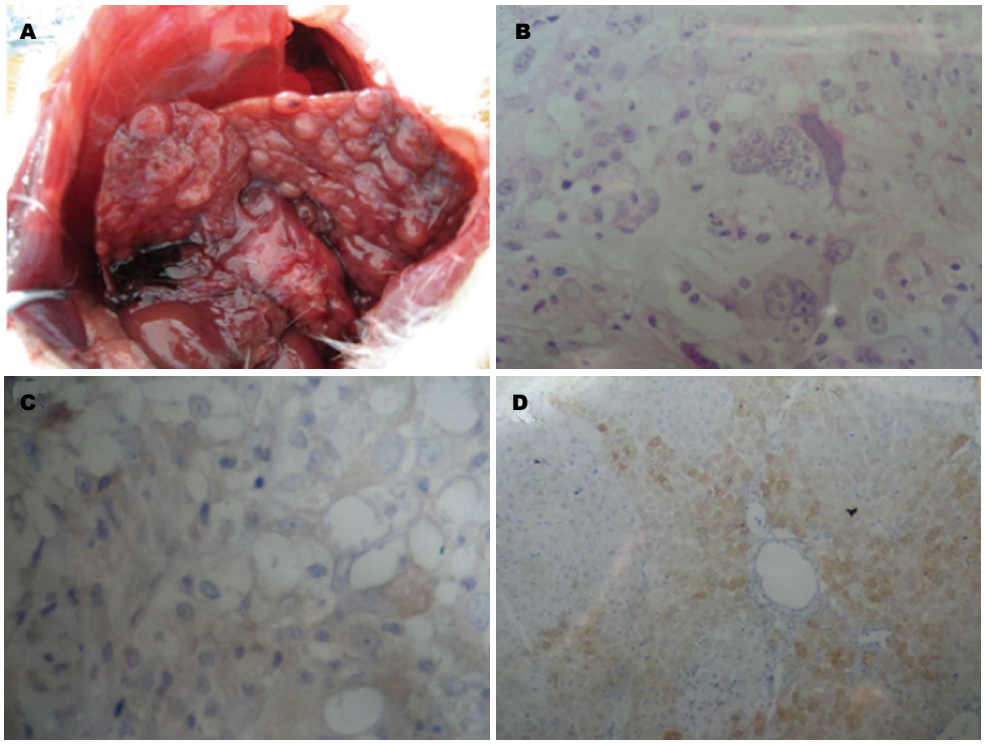


图 2 大鼠肝癌模型的建立及鉴定. A: 大鼠肝脏上的原发癌结节; B: 原发癌结节的HE染色鉴定; C: As_2O_3联合Ad-IκBαM处理组肝癌中NF-κB/P65的表达; D: As_2O_3联合Ad-IκBα处理组肝癌中NF-κB/P65的表达. NF-κB: 核因子; As_2O_3: 三氧化二砷.

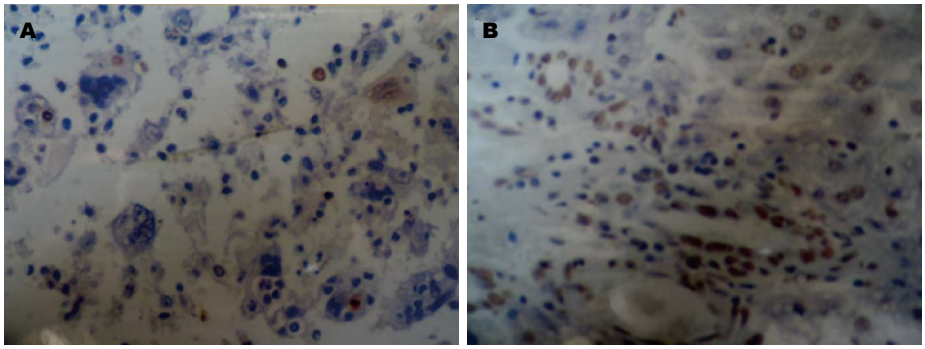


图 3 转染Ad-IκBαM能够促进肝癌细胞凋亡. A: As_2O_3联合Ad-IκBα处理组肝癌细胞凋亡检测; B: As_2O_3联合Ad-IκBαM处理组肝癌细胞凋亡检测. Ad-IκBαM: 重组腺病毒-IκBαM; As_2O_3: 三氧化二砷.

NF-κB的活化是其耐药性产生机制之一. NF-κB通常以二聚体形式与其抑制蛋白IκB形成复合物, 以非活性形式存在于细胞质中, 在受到各种理化因素的作用后IκB将被磷酸化、降解, 因而NF-κB将会被解离、活化进入细胞核内发挥调节基因转录表达的作用, 参与免疫调节、细胞转化、肿瘤的发生发展和转移以及细胞凋亡. 因此, NF-κB一旦被激活可以诱导凋亡抑制基因表达, 对抗化疗药物引起的细胞凋亡, 造成肿瘤细胞的化疗抵抗[17-19]. 因此, 抑制NF-κB通路的活化将在肿瘤治疗中发挥重要作用[20-22].

在前期工作中我们应用新型腺病毒载体构建系统AdEasy system构建含突变的*IκBα*基因的重组腺病毒Ad-IκBαM, 他是NF-κB的超抑制物, 是调控NF-κB活性的有力武器. 本研究发现Ad-IκBαM与As_2O_3具有协同作用, 转染Ad-IκBαM可以明显增强As_2O_3的抑制肝癌细胞增殖作用以及体内抑瘤作用. 16 μmol/L As_2O_3联合转染Ad-IκBαM处理组在72 h和96 h的抑制率分别为68.3%±2.1%和81.9%±3.0%, 显著高于16 μmol/L As_2O_3联合转染Ad-IκBα组. 经肝固有动脉注入As_2O_3和Ad-IκBαM后肿瘤组织中的凋亡细胞显著增多. 由此可见, As_2O_3和Ad-IκBαM联合无论在抑制肝癌细胞的增殖还是促进肿瘤细胞的凋亡方面均具有明显的协同作用. 本研究中As_2O_3联合Ad-IκBαM处理组荷瘤大鼠的生存期与其

他处理组相比没有显著延长, 其原因可能是各组试验动物较少以及观察时间较短. 总之, Ad-IκBαM重组腺病毒在肝癌治疗中的应用值得进一步研究.

4 参考文献

1 Yan X, Shen H, Jiang H, Hu D, Wang J, Wu X. External Qi of Yan Xin Qigong Inhibits Activation of Akt, Erk1/2 and NF-κB and Induces Cell Cycle Arrest and Apoptosis in Colorectal Cancer Cells. *Cell Physiol Biochem* 2013; 31: 113-122 [PMID: 23363659 DOI: 10.1159/000343354]

2 Samy RP, Rajendran P, Li F, Anandi NM, Stiles BG, Ignacimuthu S, Sethi G, Chow VT. Identification of a novel Calotropis procera protein that can suppress tumor growth in breast cancer through the suppression of NF-κB pathway. *PLoS One* 2012; 7: e48514 [PMID: 23284617 DOI: 10.1371/journal.pone.0048514]

3 Maeda H, Hori S, Nishitoh H, Ichijo H, Ogawa O, Kakehi Y, Kakizuka A. Tumor growth inhibition by arsenic trioxide (As2O3) in the orthotopic metastasis model of androgen-independent prostate cancer. *Cancer Res* 2001; 61: 5432-5440 [PMID: 11454688]

4 Nakagawa Y, Akao Y, Morikawa H, Hirata I, Katsu K, Naoe T, Ohishi N, Yagi K. Arsenic trioxide-induced apoptosis through oxidative stress in cells of colon cancer cell lines. *Life Sci* 2002; 70: 2253-2269 [PMID: 12005185 DOI: 10.1016/S0024-3205(01)01545-4]

5 Jutooru I, Chadalapaka G, Sreevalsan S, Lei P, Barhoumi R, Burghardt R, Safe S. Arsenic trioxide downregulates specificity protein (Sp) transcription factors and inhibits bladder cancer cell and tumor growth. *Exp Cell Res* 2010; 316: 2174-2188 [PMID: 20435036 DOI: 10.1016/j.yexcr.2010.04.027]

6 Kodigepalli KM, Dutta PS, Bauckman KA, Nanjundan M. SnoN/SkiL expression is modulated via arsenic trioxide-induced activation of the PI3K/AKT pathway in ovarian cancer cells. *FEBS Lett* 2013; 587: 5-16 [PMID: 23178716 DOI: 10.1016/j.febslet.2012.11.003]

7 Jang M, Kim Y, Won H, Lim S, K R J, Dashdorj A, Min YH, Kim SY, Shokat KM, Ha J, Kim SS. Carbonyl reductase 1 offers a novel therapeutic target to enhance leukemia treatment by arsenic trioxide. *Cancer Res* 2012; 72: 4214-4224 [PMID: 22719067 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-1110]

8 Long YM, Ye S, Rong J, Xie WR. Nuclear factor kappa B: a marker of chemotherapy for human stage IV gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 4739-4744 [PMID: 18720533 DOI: 10.3748/wjg.14.4739]

9 刘冰熔, 黄爱龙, 肖彧君. NF-κB超抑制物IκBaM重组腺病毒的构建. 免疫学杂志 2004; 20: 65-70

10 何年安, 王文平. 肝癌基因治疗的研究. 医学综述 2006; 13: 786-788

11 Zhang X, Su Y, Zhang M, Sun Z. Opposite effects of arsenic trioxide on the Nrf2 pathway in oral squamous cell carcinoma in vitro and in vivo. *Cancer Lett* 2012; 318: 93-98 [PMID: 22155346 DOI: 10.1016/j.canlet.2011.12.005]

12 Chun YJ, Park IC, Park MJ, Woo SH, Hong SI, Chung HY, Kim TH, Lee YS, Rhee CH, Lee SJ. Enhancement of radiation response in human cervical cancer cells in vitro and in vivo by arsenic trioxide (As2O3). *FEBS Lett* 2002; 519: 195-200 [PMID: 12023044 DOI: 10.1016/S0014-5793(02)02765-5]

13 Pu YS, Hour TC, Chen J, Huang CY, Guan JY, Lu SH. Arsenic trioxide as a novel anticancer agent against human transitional carcinoma--characterizing its apoptotic pathway. *Anticancer Drugs* 2002; 13: 293-300 [PMID: 11984073 DOI: 10.1097/00001813-200203000-00011]

14 Jiang XH, Wong BC, Yuen ST, Jiang SH, Cho CH, Lai KC, Lin MC, Kung HF, Lam SK. Arsenic trioxide induces apoptosis in human gastric cancer cells through up-regulation of p53 and activation of caspase-3. *Int J Cancer* 2001; 91: 173-179 [PMID: 11146441]

15 He H, Chen J, Xie WP, Cao S, Hu HY, Yang LQ, Gong B. Ketamine used as an acesodyne in human breast cancer therapy causes an undesirable side effect, upregulating anti-apoptosis protein Bcl-2 expression. *Genet Mol Res* 2013 Jan 4. *[Epub ahead of print]* [PMID: 23315866]

16 Kim HJ, Kim JC, Min JS, Kim MJ, Kim JA, Kor MH, Yoo HS, Ahn JK. Aqueous extract of Tribulus terrestris Linn induces cell growth arrest and apoptosis by down-regulating NF-κB signaling in liver cancer cells. *J Ethnopharmacol* 2011; 136: 197-203 [PMID: 21549825 DOI: 10.1016/j.jep.2011.04.060]

17 Hien TT, Kim HG, Han EH, Kang KW, Jeong HG. Molecular mechanism of suppression of MDR1 by puerarin from Pueraria lobata via NF-kappaB pathway and cAMP-responsive element transcriptional activity-dependent up-regulation of AMP-activated protein kinase in breast cancer MCF-7/adr cells. *Mol Nutr Food Res* 2010; 54: 918-928 [PMID: 20077420 DOI: 10.1002/mnfr.200900146]

18 Kim HG, Hien TT, Han EH, Hwang YP, Choi JH, Kang KW, Kwon KI, Kim BH, Kim SK, Song GY, Jeong TC, Jeong HG. Metformin inhibits P-glycoprotein expression via the NF-κB pathway and CRE transcriptional activity through AMPK activation. *Br J Pharmacol* 2011; 162: 1096-1108 [PMID: 21054339 DOI: 10.1111/j.1476-5381.2010.01101.x]

19 苏剑东, 吴灵飞. NF-κB与细胞凋亡. 世界华人消化杂志 2007; 15: 1411-1418

20 Shibata-Kobayashi S, Yamashita H, Okuma K, Shiraishi K, Igaki H, Ohtomo K, Nakagawa K. Correlation among 16 biological factors [p53, p21(waf1), MIB-1 (Ki-67), p16(INK4A), cyclin D1, E-cadherin, Bcl-2, TNF-α, NF-κB, TGF-β, MMP-7, COX-2, EGFR, HER2/neu, ER, and HIF-1α] and clinical outcomes following curative chemoradiation therapy in 10 patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Oncol Lett* 2013; 5: 903-910 [PMID: 23426606]

21 Ke SZ, Ni XY, Zhang YH, Wang YN, Wu B, Gao FG. Camptothecin and cisplatin upregulate ABCG2 and MRP2 expression by activating the ATM/NF-κB pathway in lung cancer cells. *Int J Oncol* 2013; 42: 1289-1296 [PMID: 23381786 DOI: 10.3892/ijo.2013.1805)]

22 Peinado C, Kang X, Hardamon C, Arora S, Mah S, Zhang H, Ngolab J, Bui JD. The NF-κB pathway down-regulates expression of the NKG2D ligand H60a in vitro: implications for use of NF-κB inhibitors in cancer therapy. *Immunology* 2013 Jan 28. *[Epub ahead of print]*[PMID: 23350962 DOI: 10.1111/imm.12080]

■同行评价

本文具有较高的临床应用价值. 课题设计严谨, 观察指标能说明Ad-IκBαM联合As_2O_3粉针剂对肝癌细胞增殖和凋亡的作用.

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2013年5月8日; 21(13): 1164-1170
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

Delta阿片受体、β–arrestin1、Bcl–2在溃疡性结肠炎大鼠脾脏组织中的表达及乌梅丸的干预作用

柯琴梅, 吴 霁, 范 恒

■背景资料
溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种以肠道免疫功能紊乱为主的慢性非特异性炎症性肠道疾病. 近20年来我国发病率呈逐年增加. 其发病是遗传、环境和免疫因素相互作用的结果, 其中免疫功能紊乱起关键性作用, 在遗传和环境因素的双重作用下, 机体对肠道菌群产生异常免疫反应, 最终导致肠道慢性炎症的发生, 但其确切的发病原因和机制还不明确, 治疗上也比较棘手. 因此对本病的发病机制和治疗上的研究显得十分必要.

柯琴梅, 华中科技大学同济医学院附属协和医院老年病科 湖北省武汉市 430022
吴霁, 南昌大学第三附属医院 江西省南昌市 330000
范恒, 华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科 湖北省武汉市 430022
柯琴梅, 副教授, 副主任医师, 主要从事老年中西医结合心血管与消化系疾病的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81072944
湖北省自然科学基金资助项目, No. 2011CDB386
作者贡献分布: 此课题由范恒与柯琴梅共同设计; 研究过程由柯琴梅与吴霁操作完成; 数据分析由吴霁完成; 论文写作由柯琴梅完成.
通讯作者: 范恒, 教授, 主任医师, 430022, 湖北省武汉市, 华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科.
fanheng009@yahoo.com.cn
电话: 027–85726395
收稿日期: 2013–02–15 修回日期: 2013–03–15
接受日期: 2013–04–17 在线出版日期: 2013–05–08

■同行评议者
刘凤斌, 教授, 广州中医药大学第一附属医院消化内科; 唐文富, 副教授, 四川大学华西医院中西医结合科

Wumeiwan treatment alters the expression of delta-opioid receptor, β-arrestin 1 and Bcl-2 in the spleen tissue of rats with ulcerative colitis

Qin-Mei Ke, Ji Wu, Heng Fan

Qin-Mei Ke, Department of Geriatrics, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China
Ji Wu, the Third Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330000, Jiangxi Province, China
Heng Fan, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81072944; the Natural Science Foundation of Hubei Province, No. 2011CDB386
Correspondence to: Heng Fan, Professor, Chief Physician, Department of Integrated Chinese and Western Medicine, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China. fanheng009@yahoo.com.cn
Received: 2013-02-15 Revised: 2013-03-15
Accepted: 2013-04-17 Published online: 2013-05-08

Abstract

AIM: To investigate the effect of Wumeiwan treatment on the expression of delta-opioid receptor, β-arrestin 1 and Bcl-2 in the spleen tissue of rats with ulcerative colitis.

METHODS: Fifty-six SD rats were randomly devided into a control group, a colitis model group, a mesalazine group and a Wumeiwan group (14 rats in each group). Ulcerative colitis was induced in rats with 2, 4, 6-trinitrobenzene-sulfonic acid. Two days after induction of ulcerative colitis, the control group and colitis model group were administered intragastrically with normal saline, while the mesalazine group and Wumeiwan group were intragastrically given mesalazine (50 g/L) and Wumeiwan (0.51 g/L), respectively. All rats were treated for 15 d. Spleen tissue samples were taken to detect the mRNA and protein expression of delta-opioid receptor, β-arrestin 1 and Bcl-2 by quantitative RT-PCR and Western blot.

RESULTS: The relative expression levels of delta-opioid receptor, β-arrestin 1 and Bcl-2 mRNAs and proteins were significantly higher in the colitis model group than in the control group (mRNA: 2.50 ± 0.25 *vs* 1.11 ± 0.10, 3.27 ± 0.41 *vs* 1.05 ± 0.06, 2.48 ± 0.43 *vs* 1.06 ± 0.04; all $P < 0.05$; protein: 1.04 ± 0.17 *vs* 0.48 ± 0.08, 1.50 ± 0.15 *vs* 0.62 ± 0.07, 1.26 ± 0.20 *vs* 0.76 ± 0.10; all $P < 0.05$). Treatment with Wumeiwan (mRNAs: 1.54 ± 0.13, 1.54 ± 0.14, 1.57 ± 0.15; proteins: 0.68 ± 0.14, 0.74 ± 0.19 and 0.93 ± 0.11) and mesalazine (mRNAs: 1.52 ± 0.09, 1.63 ± 0.27 and 1.56 ± 0.09; proteins: 0.68 ± 0.17, 0.77 ± 0.15 and 0.96 ± 0.16) significantly decreased the expression of delta-opioid receptor, β-arrestin1 and Bcl-2 mRNAs and proteins compared to the colitis model group (all $P < 0.05$). There was no significant difference in the expression of these mRNAs and proteins between the Wumeiwan group and the mesalazine group (all $P > 0.05$).

CONCLUSION: Wumeiwan treatment attenuates ulcerative colitis possibly by significantly decreasing the mRNA and protein expression of delta-opioid receptor, β-arrestin 1 and Bcl-2 in the spleen tissue of rats with ulcerative colitis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Wumeiwan; TNBS-induced colitis; Delta-opioid receptor; β-arrestin 1; Bcl-2

Ke QM, Wu J, Fan H. Wumeiwan treatment alters the expression of delta-opioid receptor, β-arrestin1 and Bcl-2 in the spleen tissue of rats with ulcerative colitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(13): 1164-1170 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1164.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i13.1164

摘要

目的: 观察溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)大鼠脾脏组织Delta阿片受体、β-arrestin1、Bcl-2 mRNA和蛋白表达及乌梅丸的干预作用, 旨在研究乌梅丸治疗结肠炎的机制.

方法: 56只SD大鼠随机分成空白对照组、结肠炎模型组、美沙拉嗪组、乌梅丸组(每组14只). 除空白对照组外, 其他3组均应用2,4,6-三硝基苯磺酸灌肠. 模型建成2 d后, 空白对照组和结肠炎模型组分别以蒸馏水3 mL/只灌胃, 美莎拉嗪组用美莎拉嗪混悬液(浓度50 g/L)、乌梅丸组用乌梅丸液(浓度0.51 g/L)以3 mL/只灌胃, 连续给药15 d后取脾脏组织, 应用Real time-PCR检测Delta阿片受体、β-arrestin1、Bcl-2 mRNA的表达, 应用Western blot技术检测Delta阿片受体、β-arrestin1、Bcl-2蛋白的表达.

结果: 空白对照组Delta阿片受体、β-arrestin1及Bcl-2 mRNA的相对表达分别为1.11±0.10、1.05±0.06及1.06±0.04; 蛋白的相对表达分别为0.48±0.08、0.62±0.07及0.76±0.10. 结肠炎模型组Delta阿片受体、β-arrestin1及Bcl-2的mRNA的相对表达分别为2.50±0.25、3.27±0.41及2.48±0.43; 蛋白的相对表达分别为1.04±0.17、1.50±0.15及1.26±0.20. 美沙拉嗪组Delta阿片受体、β-arrestin1及Bcl-2 mRNA的相对表达分别为1.52±0.09、1.63±0.27及1.56±0.09; 蛋白的相对表达分别为0.68±0.17、0.77±0.15及0.96±0.16. 乌梅丸组Delta阿片受体、β-arrestin1及Bcl-2 mRNA的相对表达分别为1.54±0.13、1.54±0.14及1.57±0.15; 蛋白的相对表达分别为0.68±0.14、0.74±0.19及0.93±0.11. 与空白对照组相比, 结肠炎模型组Delta阿片受体、β-arrestin1、Bcl-2 mRNA和蛋白表达显著升高(P<0.05); 与结肠炎模型组相比, 乌梅丸组、美沙拉嗪组Delta阿片受体、β-arrestin1、Bcl-2 mRNA和蛋白表达显著下降(P<0.05), 且乌梅丸组和美沙拉嗪组Delta阿片受体、β-arrestin1、Bcl-2 mRNA和蛋白表达均无显著差异(P>0.05).

结论: 乌梅丸下调UC大鼠脾脏组织Delta阿片受体、β-arrestin1、Bcl-2 mRNA和蛋白表达发挥治疗结肠炎的作用.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 乌梅丸; TNBS诱导的结肠炎; Delta阿片受体; β-arrestin1; Bcl-2

核心提示: 乌梅丸下调溃疡性结肠炎(ulcerative colitis)大鼠脾脏组织Delta阿片受体、β-arrestin1、Bcl-2的mRNA和蛋白表达发挥治疗结肠炎的作用.

柯琴梅, 吴霁, 范恒. Delta阿片受体、β-arrestin1、Bcl-2在溃疡性结肠炎大鼠脾脏组织中的表达及乌梅丸的干预作用. 世界华人消化杂志 2013; 21(13): 1164-1170 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1164.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i13.1164

■研发前沿
UC的发病机制与免疫异常有关, T细胞凋亡抑制失衡, 体内T细胞将过度活化与增殖, 并分泌炎性因子导致局部组织损伤. 脾脏组织T细胞的凋亡抑制是UC发生的重要机制. 脾脏组织T细胞Delta阿片受体-β-arrestin1-Bcl-2信号转导通路, 可能是UC发生发展的关键点, 对其进行研究为临床上开展中药治疗UC提供理论依据.

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是炎症性肠病的一种, 其发病机制未完全明确. 目前认为是遗传、感染、环境、免疫等多个因素相互作用的结果. UC是Th2型免疫反应, 其产生的细胞因子主要是白介素-4(interleukin-4, IL-4)、IL-5、IL-13、转化生长因子-β(transforming growth factor-β, TGF-β)等[1]. 正常情况时, 机体通过T淋巴细胞活化增殖去除细菌、病毒等抗原, 而通过细胞凋亡抑制T细胞过度活化与增殖, 最终使免疫系统处于一种适合机体生存的平衡状态. 若T细胞凋亡失衡, 就会使体内T细胞过度活化与增殖, 并分泌炎性因子导致局部组织损伤. 因此T细胞的凋亡抑制是UC的重要因素.

Delta-阿片受体(delta-opioid receptor, DOR)是G蛋白偶联受体(G-protein coupled receptor, GPCR)的一种, 在免疫系统和神经系统广泛表达. 研究表明DOR通过β-arrestin1影响$CD4^+$ T细胞的生存和凋亡[2,3]. β-arrestin1氨基酸末端都有一个β-折叠和一个α-螺旋, 在机体广泛表达, 参与多种信号通路, 对幼稚$CD4^+$ T细胞和活化$CD4^+$ T细胞的凋亡抑制基因*Bcl-2*的表达起关键性的调节作用[3], 在抗凋亡通路中起重要作用[4]. 廖奕等[5]研究表明氧化苦参碱可下调结肠组织β-arrestin1, 抑制Delta阿片受体-β-arrestin1-Bcl-2信号转导通路, 治疗TNBS诱导的实验性大鼠结肠炎. 众多临床观察研究[6-8]表明乌梅丸治疗UC患者有显著疗效. 范恒等研究表明乌梅丸可下调结肠组织β2AR、β-arrestin2、核转录因

■相关报道
本课题组用乌梅丸治疗UC取得良好的临床效果. 氧化苦参碱可下调结肠组织β-arrestin1, 抑制Delta阿片受体-β-arrestin1-Bcl-2信号转导通路, 治疗TNBS诱导的实验性大鼠结肠炎.

子(nuclear factor κB, NF-κB)p65的表达, 减少肠道炎症因子肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor α, TNF-α)、IL-6、IL-8和IL-10释放, 减轻肠道炎症损伤[9-11]. 既往研究均关注乌梅丸对结肠组织炎症因子及相关蛋白的影响, 而对作为T细胞居住的场所及细胞免疫应答的重要场所的脾脏组织的炎症因子及相关蛋白有何影响, 相关研究尚未见报道. 因此本研究小组对此进行了系统研究.

本研究通过建立UC大鼠模型, 观察乌梅丸对UC大鼠脾脏组织DOR、β-arrestin1、Bcl-2 mRNA和蛋白表达影响, 旨在研究乌梅丸治疗结肠炎的机制.

1 材料和方法

1.1 材料 ♂SD大鼠56只, SPF级, 体质量250 g±20 g, 由华中科技大学同济医学院动物中心提供, 实验动物质量合格证为SCXK(鄂)2004-0007, 使用许可证为SYXK(鄂)2004-0028; 5% 2,4,6-三硝基苯磺酸(TNBS)购自美国Sigma公司; TRIzol购自Invitrogen公司; RNA提取试剂盒DP430、cDNA第一链合成试剂盒KR104-02以及RNase抑制剂DP418购自天根; 引物合成于金斯瑞; SYBR Green PCR Master Mix(2X) #K0242购自Fermentas; 实时荧光定量PCR仪ABI7500. 引物由Primer6.0软件设计, 每对引物序列如下: DOR引物上游: 5'-agaccgccaccaacatctac-3', 下游: 5'-gaagtccagggctttgacag-3', 扩增片段长度为236 bp, 退火温度为55 ℃; β-arrestin1引物上游: 5'-ctcaagcatgaggacacgaa-3', 下游: 5'-ttaggcttggggtgcattag-3', 扩增片段长度为194 bp, 退火温度为54 ℃; Bcl-2引物上游: 5'-ggtggtggaggaactcttca-3', 下游: 5'-atgccggttcaggtactcag-3', 扩增片段长度为157 bp, 火温度为53 ℃; 内参β-actin引物上游: 5'-gtccctcaccctcccaaaag-3', 下游: 5'gctgcctcaacacctcaaccc-3', 扩增片段长度为265 bp, 退火温度55.7 ℃. RIPA裂解液(强)、BCA蛋白浓度测定试剂盒购自碧云天; PVDF膜购自Millipore; 相关一抗购自Bioworld; 二抗购自博士德; ECL底物液购自Thermo; 电泳槽、Millipore电转仪购自北京六一. 美沙拉嗪(0.5 g×10袋/盒, 法国爱的发制药集团). 乌梅丸组成药物及剂量如下: 乌梅16 g、细辛6 g、干姜10 g、黄连16 g、当归49 g、附子69 g、蜀椒49 g、桂枝69 g、生晒参6 g、黄柏6 g, 组方中各味生药均购自武汉协和医院, 按传统方法配制成含生药浓度为0.51 g/mL的水煎剂.

1.2 方法

1.2.1 分组: 将56只大鼠随机分成空白对照组、结肠炎模型组、美沙拉嗪组、乌梅丸组, 每组14只, 各组体质量比较差异无统计学意义(P>0.05). 在湿度为50%-70%、温度为20 ℃动物房内饲养.

1.2.2 模型建立及药物干预: 依据Morris等[12]与廖奕等[5]及Fan等[9,13]提出的方法进行造模, 具体操作如下: 除空白对照组外, 其他组大鼠均在禁食不禁饮24 h后, 给予2,4,6-三硝基苯磺酸灌肠. 首先用10%的水合氯醛以3 mL/kg腹腔注射麻醉后, 将内径2 mm的橡胶导尿管缓缓插入大鼠肛门约8 cm, 将抽取好的50%的乙醇溶液注入0.25 mL后继续注入5% 2,4,6-三硝基苯磺酸液0.3 mL, 使药液缓慢进入肠道, 将大鼠提尾倒置30 s. 然后让大鼠平躺, 待其清醒后自由饮食, 自由进水. 模型建成后, 观察各组大鼠精神状态, 大便颜色、形状、皮毛等变化. 2 d后, 美沙拉嗪组每天用美沙拉嗪悬浊3 mL/只灌胃; 乌梅丸组每天用乌梅丸药液3 mL/只灌胃; 空白对照组和结肠炎模型组每天用蒸馏水3 mL/只灌胃, 1次/d, 连续灌胃15 d. 每组大鼠死亡4只, 因此每组实验大鼠最后各剩10只. 第16天每只大鼠禁食不禁水24 h后处死, 取大鼠的脾脏, 每个脾脏分为2份, 装于EP管中, 用液氮冰冻保存. 取4组大鼠中有明显病变的结肠组织石蜡包埋切片并HE染色, 镜下观察4组大鼠结肠组织病理学改变.

1.2.3 RT-PCR方法检测结肠炎大鼠脾脏组织DOR、β-arrestin1、Bcl-2的mRNA表达: 按RNA提取试剂盒DP430的方法提取脾脏组织的RNA, 并用分光光度计测量RNA的浓度, 取5 μL模板RNA、Oligo(dT)15(10 μmol/L)2 μL、ddH_2O(Rnase free)6 μL混匀后放入PCR仪中, 70 ℃ 5 min, 立即置于冰上1 min, 然后瞬时离心并加入以下试剂: 5×RT buffer 4 μL、HRP(RRI)/RNase Inhibitor 0.5 μL、M-MLV 0.5 μL、dNTP(2.5 mmol/L)2 μL, 总体积为20 μL的反应体系. 逆转录条件: 42 ℃ 30 min, 99 ℃ 5 min, 4 ℃ 5 min. 各对引物序列见前. 扩增条件: 95 ℃ 60 s预变性, 进入PCR循环95 ℃ 15 s, 58 ℃ 15 s, 72 ℃ 45 s, 40个循环, 以β-actin为内参, 对DOR、β-arrestin1、Bcl-2的产物相对定量, 读取Ct值, 使用$2^{-\Delta\Delta Ct}$方法进行相对定量分析.

1.2.4 Western blot检测脾脏标本中DOR、β-arrestin1、Bcl-2的蛋白表达: 取适量(250-500 mg)

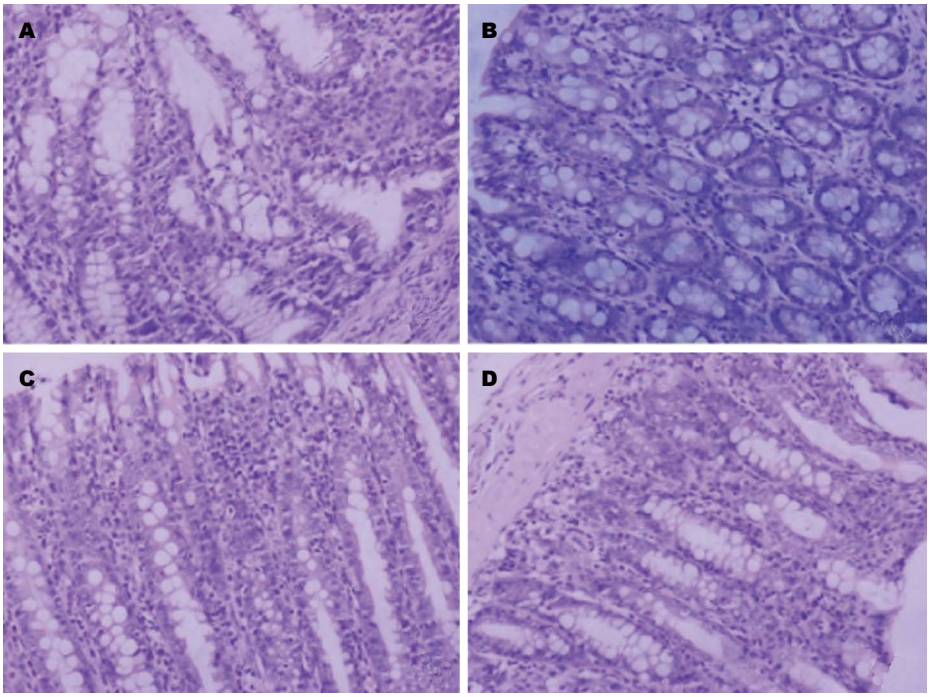


图 1 各组大鼠结肠黏膜组织病理变化(HE, ×400). A: 结肠炎模型组; B: 空白对照组; C: 乌梅丸组; D: 美沙拉嗪组.

■创新盘点

本文通过研究大鼠结肠和脾脏中DOR、β-arrestin1、Bcl-2的表达来阐明溃疡性结肠炎的发病机制, 检测指标和UC密切相关, 为乌梅丸治疗UC提供理论依据和研究思路.

表 1 大鼠脾脏组织中DOR、β-arrestin1、Bcl-2 mRNA的表达 (mean ± SD)

分组	DOR	β-arresstin1	Bcl-2
空白组	1.11 ± 0.10	1.05 ± 0.06	1.06 ± 0.04
模型组	2.50 ± 0.25[a]	3.27 ± 0.41[a]	2.48 ± 0.43[a]
美沙拉嗪组	1.52 ± 0.09[c]	1.63 ± 0.27[c]	1.56 ± 0.09[c]
乌梅丸组	1.54 ± 0.13[e]	1.54 ± 0.14[e]	1.57 ± 0.15[e]

[a]P<0.05 *vs* 空白组; [c]P<0.05, [e]P<0.05 *vs* 模型组. DOR: Delta-阿片受体.

脾脏组织, 剪碎加1 mL RIPA裂解液(强), 匀浆抽提总蛋白, 并按BCA蛋白质定量试剂盒操作说明操作, 测定各组蛋白浓度. 各样品取70 μg总蛋白上样电泳, 根据蛋白分子量配制不同浓度的PAGE胶电泳, β-arrestin1和DOR用10%的PAGE胶; Bcl-2用12%PAGE胶电泳, 根据预染Marker的显示, 判断目的蛋白得到充分分离后, 停止电泳. 取出凝胶根据Marker切下目的条带, 用蒸馏水冲洗, 剪与PAGE凝胶相同大小的PVDF膜和滤纸, PVDF膜用甲醇浸泡数秒后和滤纸一同浸泡于电转缓冲液中. 按照黑色板-纤维垫-滤纸-凝胶-PVDF膜-滤纸-纤维垫-白色板依次放好, 夹紧板后放入转膜仪内, 黑色板的一面对照黑色负极. 转膜条件: β-arrestin1、DOR 200 mA, 120 min; Bcl-2 200 mA, 80 min. 用含5%脱脂奶粉的TBST(封闭液)浸泡PVDF膜, 室温摇床封闭2 h. 一抗: 用封闭液稀释相应的一抗, 使PVDF膜浸泡于一抗孵育液中, 4 ℃孵育过夜. DOR 1∶500稀释, β-arrestin1 1∶700稀释, Bcl-2与GAPDH 1∶1000稀释. 二抗: TBST充分洗涤PVDF膜5-6次, 5 min/次用封闭液稀释羊抗兔二抗 1∶10000稀释, 使PVDF膜浸泡于二抗孵育液中, 室温摇床孵育2 h. 显色曝光: TBST充分洗涤PVDF膜5-6次. 结果采用光密度扫描灰度值分析.

统计学处理 所有数据采用mean±SD表示, 应用国际标准统计软件SPSS17.0统计分析, 多组间两两比较采用SNK-q检验, P<0.05为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 大鼠结肠组织病理改变 结肠炎模型组中固有层和黏膜层内可见弥漫性中性粒细胞、淋巴细胞、浆细胞浸润, 结肠黏膜腺体排列紊乱, 杯状细胞减少. 正常结肠组织黏膜和固有层结构完整, 腺体排列较整齐. 乌梅丸组和美沙拉嗪组淋巴细胞等炎性细胞浸润较模型组减轻, 黏膜及固有层结构相对完整, 杯状细胞较模型组多, 腺体排列相对整齐(图1).

2.2 大鼠脾脏组织中DOR、β-arrestin1、Bcl-2 mRNA的表达 各组大鼠脾脏组织中DOR、β-arrestin1、Bcl-2 mRNA的表达详见表1和图2. 与空白对照组相比, 结肠炎模型组DOR、β-arrestin1、Bcl-2 mRNA表达均升高, 差异均有统计学意义(P<0.05); 与结肠炎模型组相比, 乌梅丸组、美沙拉嗪组DOR、β-arrestin1、Bcl-2

■应用要点
本文研究发现乌梅丸和美沙拉秦均可以有效治疗UC，特别是中药乌梅丸具有较好的治疗作用，药物安全，疗效理想，有一定临床应用前景.

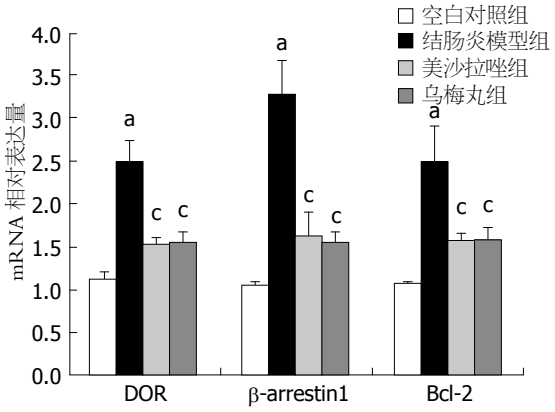


图 2 大鼠脾脏组织中DOR、β-arrestin1、Bcl-2 mRNA的相对表达. $^{a}P<0.05$ *vs* 空白组; $^{c}P<0.05$ *vs* 模型组. DOR: Delta-阿片受体.

表 2 大鼠脾脏组织中DOR、β-arrestin1、Bcl-2蛋白的表达 (mean ± SD)

分组	DOR	β-arrestin1	Bcl-2
空白组	0.48 ± 0.08	0.62 ± 0.07	0.76 ± 0.10
模型组	1.04 ± 0.17^{a}	1.50 ± 0.15^{a}	1.26 ± 0.20^{a}
美沙拉嗪组	0.68 ± 0.17^{c}	0.77 ± 0.15^{c}	0.96 ± 0.16^{c}
乌梅丸组	0.68 ± 0.14^{e}	0.74 ± 0.19^{e}	0.93 ± 0.11^{e}

$^{a}P<0.05$ *vs* 空白组; $^{c}P<0.05$, $^{e}P<0.05$ *vs* 模型组. DOR: Delta-阿片受体.

mRNA表达下降，差异均有统计学意义($P<0.05$)，但乌梅丸组和美沙拉嗪组DOR、β-arrestin1、Bcl-2 mRNA表达差异均无统计学意义($P>0.05$).

2.3 大鼠脾脏组织中DOR、β-arrestin1、Bcl-2蛋白的表达 各组大鼠脾脏组织中DOR、β-arrestin1、Bcl-2蛋白的表达情况详见表2、图3及图4. 与空白对照组相比，结肠炎模型组DOR、β-arrestin1、Bcl-2的蛋白表达均升高，差异均有统计学意义($P<0.05$)；与结肠炎模型组相比，乌梅丸组、美沙拉嗪组DOR、β-arrestin1、Bcl-2的蛋白表达量下降，差异均有统计学意义($P<0.05$)，但乌梅丸组和美沙拉嗪组DOR、β-arrestin1、Bcl-2的蛋白表达差异均无统计学意义($P>0.05$).

3 讨论

目前认为UC发病机制可能是易感患者肠道内环境改变导致体内T细胞的异常活化，分泌大量的炎性细胞因子，介导肠道的损伤[14,15]. 正常情况时，机体通过细胞凋亡抑制T细胞的过度增殖和活化，使肠黏膜免疫系统处于适应机体生存的

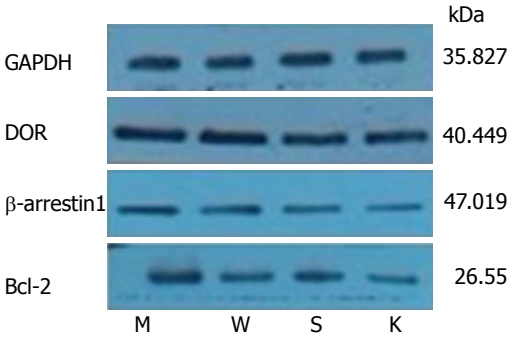


图 3 大鼠脾脏组织中DOR、β-arrestin1、Bcl-2的蛋白表达. M: 结肠炎模型组; W: 乌梅丸组; S: 美沙拉嗪组; K: 空白对照组. DOR: Delta-阿片受体.

平衡状态[16]. 若T细胞凋亡抑制失衡，体内T细胞将过度活化与增殖，并分泌炎性因子导致局部组织损伤. 脾脏是免疫细胞特别是T细胞的居住场所，同时也是细胞免疫应答的重要场所[17]，脾脏组织T细胞数目及功能与机体免疫反应呈正相关[18,19]. 因此脾脏组织T细胞的凋亡抑制是UC发生的重要机制.

乌梅丸由乌梅、细辛、干姜、黄连、当归、附子、蜀椒、桂枝、党参、黄柏组成. 乌梅丸出自仲景《伤寒论•厥阴病篇》，方中以乌梅酸敛收固，附子、干姜、桂枝扶阳以胜寒，蜀椒、细辛通阳以破阴，附子、干姜、蜀椒、桂枝、细辛，辛热以助其阳，温以祛寒；黄连、黄柏之苦寒以坚其阴，清以泻热，党参、当归益气养血，诸药合用，使寒热邪去，阴阳协调，气血恢复. 全方酸收熄风，辛热助阳，酸苦坚阴，寒热温凉，温清敛补，攻补兼施，诸药配伍，调理阴阳寒热虚实，使之归复于平和. 郭洪波、谢微杳等[6,7,20,21]临床观察研究，乌梅丸治疗UC患者有显著疗效. 对于乌梅丸治疗UC的机制，既往已有研究多关注乌梅丸对结肠组织而非脾脏组织的炎症因子及相关蛋白的影响[8-11]. 本研究主要针对作为T细胞居住的场所及细胞免疫应答的重要场所的脾脏组织，研究乌梅丸治疗对其炎症因子及相关蛋白表达的影响究. 美沙拉嗪是柳氮磺胺吡啶的一种，常用于UC的治疗，可抑制前列腺素的合成和炎性介质白三烯的形成，显著抑制肠黏膜的炎症反应，本研究中用来作为乌梅丸治疗的阳性对照. 本研究结果发现乌梅丸组与美沙拉嗪组较结肠炎模型组结肠黏膜及固有层结构相对完整，腺体排列相对整齐，杯状细胞多，炎性细胞浸润较结肠炎模型组减轻，表明乌梅丸与美沙拉嗪对UC有较好的治疗作用.

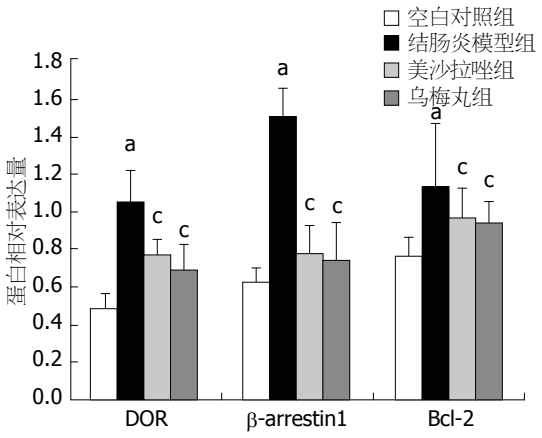


图 4 大鼠脾脏组织中DOR、β-arrestin1、Bcl-2蛋白的表达. $^{a}P<0.05$ *vs* 空白组; $^{c}P<0.05$ *vs* 模型组. DOR: Delta-阿片受体.

阿片受体可在某些神经细胞高表达, 也可在中性粒细胞、单核细胞、巨噬细胞和T细胞上低表达, 其表达水平在调节一些生物学功能如快速诱导MAPK活化和细胞驱药性有重要意义[22]. 当配体与细胞膜上DOR结合后, G蛋白α亚基与GDP的亲和力降低而解离, 与GTP的亲和力增加而结合, 使异源三聚体G蛋白解离为Gα和Gβγ, 激活G蛋白, 介导信号传导通路, 传递生物学信息[23,24]. HEK293细胞膜上DOR受刺激后, 使细胞质β-arrestin1转移至细胞核, 募集乙酰化酶p300富集启动子(p27和c-fos等)区域, 启动子结合的组蛋白乙酰化增强, 导致相应的基因转录[25]. T细胞受体受刺激后, 可引起其免疫突触的脂筏(lipid raft)结构中的cAMP水平增高, 增加PKA(蛋白激酶A)活化, 使Csk(一种羧基端Src激酶)的S364位点磷酸化, 激活Csk, 使Lck(淋巴细胞特异性蛋白酪氨酸激酶)磷酸化并失活, 阻碍TCR的ξ磷酸化, 抑制T细胞的活性, 这种反馈性抑制作用使T细胞不能完全活化. T细胞的TCR/CD28共刺激信号被激活后, 使细胞质内β-arrestin募集到TCR上, 然后再通过两种途径使cAMP水平降低: (1)使Gs从活化的TCR上解偶联, 降低腺苷酸环化酶活性, 从而降低cAMP水平; (2)将PDE4(磷酸二酯酶4)募集到细胞膜的脂筏结构中, 使cAMP降解. cAMP水平降低, 可以下调抑制T细胞活化的cAMP-PKA-Csk抑制性信号, 完全活化T细胞, 使Csk移动到胞质中, 信号进一步传导[26-28]. TCR/CD28共刺激信号活化T细胞后, 可激活TrkA/IP3/Akt/NF-κB信号通路, 诱导T细胞表达更多的DOR[29].

DOR是G蛋白偶联受体的一种, 主要在神经系统和免疫细胞(如中性粒细胞、单核细胞、巨噬细胞、T细胞等)表达. 活化的DOR能诱导β-arrestin1从T细胞浆内转移至细胞核内. β-arrestin1属于Arrestin家族, 有细胞质功能和细胞核功能. β-arrestin1在细胞质参与GPCR的内化和脱敏, 使GPCR信号通路终止; β-arrestin1在细胞核介导某些基因的转录. β-arrestin1在机体广泛表达, 可作为脚手架蛋白与连接分子(比如磷脂类和β-衔接蛋白)连接, 参与多种信号通路, 在抗凋亡通路中起重要作用. 细胞核内的β-arrestin1可募集组蛋白乙酰化酶p300至*Bcl-2*基因的启动子, 使编码基因*Bcl-2*的启动子序列区域组蛋白H4乙酰化作用增强, 导致*Bcl-2*基因转录, 促进抗凋亡蛋白Bcl-2表达[2,3,19]. Bcl-2表达增加, Bcl-2/BAX比例升高, 抗凋亡信号相对增强, 抑制细胞质线粒体释放细胞色素C和半胱天冬酶(caspase)[30]活化过程, 从而抑制$CD4^+$ T细胞凋亡. T细胞数量增加, 分泌更多的炎性细胞因子, 介导肠道的炎症反应.

本研究结果显示结肠炎模型组DOR、β-arrestin1、Bcl-2 mRNA和蛋白表达较空白对照组显著升高; 乌梅丸组及美沙拉嗪组DOR、β-arrestin1、Bcl-2 mRNA和蛋白表达较结肠炎模型组显著下降, 且乌梅丸组和美沙拉嗪组DOR、β-arrestin1、Bcl-2 mRNA和蛋白表达均无明显差异. 提示乌梅丸下调UC大鼠脾脏组织DOR、β-arrestin1、Bcl-2 mRNA和蛋白表达, 使T细胞凋亡的抑制减弱, T细胞数量减少, 炎症反应减轻, 从而缓解UC的症状, 发挥治疗结肠炎的作用.

总之, 乌梅丸可能通过下调UC大鼠脾脏组织Delta阿片受体、β-arrestin1、Bcl-2 mRNA和蛋白的表达量, 使T细胞凋亡的抑制减弱, 即促使T细胞凋亡, 从而改善UC的临床症状.

■同行评价
本文选题新颖, 实验设计较严谨, 讨论较充分, 有一定科学意义.

4 参考文献

1 Shih DQ, Targan SR. Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 390-400 [PMID: 18200661]
2 Beaulieu JM, Caron MG. Beta-arrestin goes nuclear. *Cell* 2005; 123: 755-757 [PMID: 16325568 DOI: 10.1016/j.cell.2005.11.010]
3 Shi Y, Feng Y, Kang J, Liu C, Li Z, Li D, Cao W, Qiu J, Guo Z, Bi E, Zang L, Lu C, Zhang JZ, Pei G. Critical regulation of CD4+ T cell survival and autoimmunity by beta-arrestin 1. *Nat Immunol* 2007; 8: 817-824 [PMID: 17618287 DOI: 10.1038/ni1489]
4 Povsic TJ, Kohout TA, Lefkowitz RJ. Beta-arrestin1 mediates insulin-like growth factor 1 (IGF-1) activation of phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) and anti-apoptosis. *J Biol Chem* 2003; 278: 51334-51339 [PMID: 14534298 DOI: 10.1074/jbc]

5 廖奕, 范恒, 陈小艳, 张丽娟. β-arrestin1在实验性大鼠结肠炎发生机制中的作用及氧化苦参碱的干预作用. 中国中西医结合杂志 2010; 30: 1067-1072
6 谢微杳, 卫永琪. 乌梅丸加减治疗溃疡性结肠炎39例. 河北中医药学报 2011; 26: 30
7 辛福兵. 乌梅丸治疗慢性溃疡性结肠炎47例. 现代中医药 2011; 31: 20-21
8 范恒, 梁丽, 唐庆, 陈小艳, 刘星星, 张丽娟, 钟敏, 朱习文. 乌梅丸对溃疡性结肠炎大鼠STAT6表达的影响. 中西医结合研究 2011; 3: 127-131
9 Fan H, Shen L, Tang Q, Xiong P, Shou Z, Liao Y, Liang L, Chen X. Effect of Wumeiwan on cytokines TNF-alpha, IL-6, IL-8, IL-10 and expression of NF-kappaBp65 in rats with ulcerative colitis. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2009; 29: 650-654 [PMID: 19821103 DOI: 10.1007/s11596-009-0523-4]
10 梁丽, 范恒, 段雪云. β2AR、β-arrestin2、NF-κB p65在溃疡性结肠炎大鼠中的表达及乌梅丸的干预作用. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1650-1655
11 范恒, 段雪云, 庄雄, 吕建芳, 寿折星. 乌梅丸对溃疡性结肠炎大鼠结肠组织NF-κB p65的影响. 世界华人消化杂志 2008; 16: 896-899
12 Morris GP, Beck PL, Herridge MS, Depew WT, Szewczuk MR, Wallace JL. Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon. *Gastroenterology* 1989; 96: 795-803 [PMID: 2914642]
13 Fan H, Qiu MY, Mei JJ, Shen GX, Liu SL, Chen R. Effects of four regulating-intestine prescriptions on pathology and ultrastructure of colon tissue in rats with ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 4800-4806 [PMID: 16097047]
14 Sartor RB. Mechanisms of disease: pathogenesis of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2006; 3: 390-407 [PMID: 16819502 DOI: 10.1038/ncpgasthep0528]
15 Maynard CL, Weaver CT. Intestinal effector T cells in health and disease. *Immunity* 2009; 31: 389-400 [PMID: 19766082 DOI: 10.1016/j.immuni.2009.08.012]
16 Zhang SZ, Zhao XH, Zhang DC. Cellular and molecular immunopathogenesis of ulcerative colitis. *Cell Mol Immunol* 2006; 3: 35-40 [PMID: 16549047]
17 Velásquez-Lopera MM, Correa LA, García LF. Human spleen contains different subsets of dendritic cells and regulatory T lymphocytes. *Clin Exp Immunol* 2008; 154: 107-114 [PMID: 18727627 DOI: 10.1111/j.1365-2249.2008.03734.x]
18 Neurath MF, Finotto S, Glimcher LH. The role of Th1/Th2 polarization in mucosal immunity. *Nat Med* 2002; 8: 567-573 [PMID: 12042806 DOI: 10.1038/nm0602-567]
19 Strober W, Fuss IJ, Blumberg RS. The immunology of mucosal models of inflammation. *Annu Rev Immunol* 2002; 20: 495-549 [PMID: 11861611 DOI: 10.1146/annurev.immunol.20.100301.064816]
20 郭洪波, 罗玉梅, 王静波. 乌梅汤加减治疗溃疡性结肠炎44例. 新中医 2007; 39: 44
21 高天曙. 乌梅丸方证分析及临床新用. 中医临床研究 2011; 3: 49-50
22 Bohn LM, Belcheva MM, Coscia CJ. Mitogenic signaling via endogenous kappa-opioid receptors in C6 glioma cells: evidence for the involvement of protein kinase C and the mitogen-activated protein kinase signaling cascade. *J Neurochem* 2000; 74: 564-573 [PMID: 10646507 DOI: 10.1046/j.1471-4159.2000.740564.x]
23 Rajagopal S, Rajagopal K, Lefkowitz RJ. Teaching old receptors new tricks: biasing seven-transmembrane receptors. *Nat Rev Drug Discov* 2010; 9: 373-386 [PMID: 20431569 DOI: 10.1038/nrd3024]
24 Musnier A, Blanchot B, Reiter E, Crépieux P. GPCR signalling to the translation machinery. *Cell Signal* 2010; 22: 707-716 [PMID: 19887105 DOI: 10.1016/j.cellsig.2009.10.012]
25 Kang J, Shi Y, Xiang B, Qu B, Su W, Zhu M, Zhang M, Bao G, Wang F, Zhang X, Yang R, Fan F, Chen X, Pei G, Ma L. A nuclear function of beta-arrestin1 in GPCR signaling: regulation of histone acetylation and gene transcription. *Cell* 2005; 123: 833-847 [PMID: 16325578 DOI: 10.1016/j.cell.2005.09.011]
26 Abrahamsen H, Baillie G, Ngai J, Vang T, Nika K, Ruppelt A, Mustelin T, Zaccolo M, Houslay M, Taskén K. TCR- and CD28-mediated recruitment of phosphodiesterase 4 to lipid rafts potentiates TCR signaling. *J Immunol* 2004; 173: 4847-4858 [PMID: 15470025]
27 Nguyen K, Miller BC. CD28 costimulation induces delta opioid receptor expression during anti-CD3 activation of T cells. *J Immunol* 2002; 168: 4440-4445 [PMID: 11970987]
28 Taskén K, Stokka AJ. The molecular machinery for cAMP-dependent immunomodulation in T-cells. *Biochem Soc Trans* 2006; 34: 476-479 [PMID: 16856837 DOI: 10.1042/BST0340476]
29 Chen YL, Law PY, Loh HH. Sustained activation of phosphatidylinositol 3-kinase/Akt/nuclear factor kappaB signaling mediates G protein-coupled delta-opioid receptor gene expression. *J Biol Chem* 2006; 281: 3067-3074 [PMID: 16316997 DOI: 10.1074/jbc.M506721200]
30 Shi Q, Hou Y, Yang Y, Bai G. Protective effects of glycyrrhizin against β-adrenergic receptor agonist-induced receptor internalization and cell apoptosis. *Biol Pharm Bull* 2011; 34: 609-617 [PMID: 21532146]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2013年5月8日; 21(13): 1171-1177
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

从溃疡性结肠炎大鼠肺损伤细胞凋亡机制探讨“肺与大肠相表里”

盛益华, 王新月, 闫 昕, 朱 立, 张良登

盛益华, 王新月, 闫昕, 朱立, 张良登, 北京中医药大学东直门医院消化内科 北京市 100700
盛益华, 在读博士, 主要从事中医药防治胃肠疾病的研究.
“973”国家重点基础研究发展计划基金资助项目, No. 2009CB522700; No. 2009CB522705
作者贡献分布: 此课题由王新月设计; 研究过程由盛益华、闫昕及张良登操作完成, 朱立指导; 数据处理与分析由盛益华完成; 本论文写作由盛益华与王新月完成.
通讯作者: 王新月, 教授, 主任医师, 博士生导师, 100700, 北京市东城区海运仓5号, 北京中医药大学东直门医院消化内科.
wxy6687@sina.com
电话: 010-84013361
收稿日期: 2013-02-06 修回日期: 2013-03-27
接受日期: 2013-04-19 在线出版日期: 2013-05-08

Discussion on theory of the lung and the large intestine being interior-exteriorly related from mechanism of apoptosis in lung injury in rats with ulcerative colitis

Yi-Hua Sheng, Xin-Yue Wang, Xin Yan, Li Zhu, Liang-Deng Zhang

Yi-Hua Sheng, Xin-Yue Wang, Xin Yan, Li Zhu, Liang-Deng Zhang, Department of Gastroenterology, Dongzhimen Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700, China
Supported by: the National Basic Research Program of China (973 Program)-Lung and Large Intestine, Nos. 2009CB522700 and 2009CB522705
Correspondence to: Xin-Yue Wang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Dongzhimen Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, 5 Haiyuncang, Dongcheng District, Beijing 100700, China. wxy6687@sina.com
Received: 2013-02-06 Revised: 2013-03-27
Accepted: 2013-04-19 Published online: 2013-05-08

Abstract

AIM: To discuss mechanism of apoptosis of in lung injury in rats with ulcerative colitis and to further explore the theory of the lung and the large intestine being interior-exteriorly related.

METHODS: Sixty-six Wistar rats were randomly divided into two groups: normal group and model group. Both groups were observed at three time points (10 rats at each time point for the normal group, and 12 rats for the model group). The model was established using immune complex and trinitrobenzenesulfonic acid. Pathological and morphological changes of the lung and the colon were dynamically observed on the 0, 2nd and 4th wk. Protein expression of Bcl-2 and Bax in the lung was tested by Western blot.

RESULTS: Compared to the normal group, intestinal index (week 0: 0.00252 ± 0.000557 *vs* 0.00564 ± 0.00119, P = 0.0000; week 2: 0.00245 ± 0.000234 *vs* 0.00573 ± 0.00283, P = 0.0002; week 4: 0.00237 ± 0.000284 *vs* 0.00524 ± 0.00310, P = 0.0014) and lung index (week 0: 0.00404 ± 0.000399 *vs* 0.00473 ± 0.000634, P = 0.0088; week 2: 0.00383 ± 0.000433 *vs* 0.00472 ± 0.00104, P = 0.0267; week 4: 0.00347 ± 0.000444 *vs* 0.00440 ± 0.00106, P = 0.0017) significantly increased in the model group at various time points. Compared to the normal group, obvious pathological changes appeared in the lung and the colon and there were decreased expression of Bcl-2 (week 2: 1.333 ± 0.114 *vs* 0.947 ± 0.068, P = 0.0072; week 4: 1.594 ± 0.187 *vs* 0.982 ± 0.128, P = 0.0094) and Bax (week 2: 0.521 ± 0.069 *vs* 1.078 ± 0.220, P = 0.0139; week 4: 0.817 ± 0.179 *vs* 1.491 ± 0.323, P = 0.034) and significantly reduced ratio of Bcl-2 to Bax (week 2: 12.570 ± 0.147 *vs* 0.895 ± 0.129, P = 0.0001; week 4: 2.036 ± 0.586 *vs* 0.668 ± 0.0678, P = 0.016).

CONCLUSION: Abnormal expression of Bcl-2 and Bax in the lung that induces cell apoptosis may be one of molecular mechanisms of lung injury in ulcerative colitis and may provide a theoretical basis for enteropathy inducing pneumonopathy.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Ulcerative colitis; Apoptosis; Interior-exteriorly related; Lung injury

Sheng YH, Wang XY, Yan X, Zhu L, Zhang LD. Discussion on theory of the lung and the large intestine being interior-exteriorly related from mechanism of apoptosis in lung injury in rats with ulcerative colitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(13): 1171-1177

■背景资料
早在20世纪70年代, 国外就有学者明确提出炎症性肠病可累及肺脏的观点, 随后国内外陆续有文献报道溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)患者肺部病变的发生, 但UC肺损伤的发病机理至今依然不明确, 相关动物实验研究方面的报道亦较少见.

■同行评议者
缪应雷, 主任医师, 昆明医科大学第一附属医院消化内科; 刘杰民, 副主任医师, 贵州省人民医院消化内镜科

■研发前沿
目前国内外关于UC的临床及动物实验研究均已发现UC肺损伤的存在，但UC肺损伤的发生机制尚不明确，且临床治疗仍多采用氨基水杨酸类药物和皮质类固醇药物，治疗效果不理想，因此明确UC肺损伤的发生机制非常重要.

URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1171.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i13.1171

摘要

目的: 探讨溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)大鼠肺损伤的细胞凋亡机制, 进一步探究“肺与大肠相表里”理论.

方法: 66只Wistar大鼠, 随机分为6组, 3个观察时间点均设正常组与模型组, 其中正常组均为10只, 模型组均为12只, 模型组大鼠采用结肠黏膜组织致敏加三硝基苯磺酸-50%乙醇灌肠的方法建立大鼠UC模型, 于造模后第0、2、4周动态观察肺、结肠组织病理形态学改变, 采用Western blot法动态观察大鼠肺组织中Bcl-2、Bax蛋白表达变化.

结果: 与正常组比较, 各时间点模型组大鼠肠质量指数明显升高(第0周: 0.00252±0.000557 *vs* 0.00564±0.00119, $P = 0.0000$; 第2周: 0.00245±0.000234 *vs* 0.00573±0.00283, $P = 0.0002$; 第4周: 0.00237±0.000284 *vs* 0.00524±0.00310, $P = 0.0014$)、肺质量指数增加(第0周: 0.00404±0.000399 *vs* 0.00473±0.000634, $P = 0.0088$; 第2周: 0.00383±0.000433 *vs* 0.00472±0.00104, $P = 0.0267$; 第4周: 0.00347±0.000444 *vs* 0.00440±0.00106, $P = 0.0017$), 肺肠组织HE染色均出现明显病理变化, 肺组织Bcl-2蛋白表达水平明显下降(第2周: 1.333±0.114 *vs* 0.947±0.068, $P = 0.0072$; 第4周: 1.594±0.187 *vs* 0.982±0.128, $P = 0.0094$), Bax蛋白表达水平明显上升(第2周: 0.521±0.069 *vs* 1.078±0.220, $P = 0.0139$; 第4周: 0.817±0.179 *vs* 1.491±0.323, $P = 0.034$), Bcl-2/Bax比值显著降低(第2周: 2.570±0.147 *vs* 0.895±0.129, $P = 0.0001$; 第4周: 2.036±0.586 *vs* 0.668±0.0678, $P = 0.016$).

结论: 肺组织中Bcl-2和Bax蛋白表达异常并诱导肺组织细胞凋亡可能是UC肺损伤的分子机制之一, 并可能为“肠病及肺”提供理论依据.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 溃疡性结肠炎; 细胞凋亡; 肺与大肠相表里; 肺损伤

核心提示: 肺组织中Bcl-2和Bax蛋白表达异常并诱导肺组织细胞凋亡可能是溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)肺损伤的分子机制之一. 因此, 以干预细胞凋亡信号转导途径为中心, 对明确UC肺损伤细胞凋亡的发生机制和“肠病及肺”的现代生物学机制将有较好的启示作用.

盛益华, 王新月, 闫昕, 朱立, 张良登. 从溃疡性结肠炎大鼠肺损伤细胞凋亡机制探讨“肺与大肠相表里”. 世界华人消化杂志 2013; 21(13): 1171-1177 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1171.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i13.1171

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)又称非特异性溃疡性结肠炎, 是一种直肠和结肠黏膜的慢性非特异性炎症性病变, 其病变主要累及结肠黏膜与黏膜下层[1]. 近年来, 随着我国人民生活水平的提高和生活方式的改变, UC发病率逐年增加[2]. UC的发病原因及发病机制尚未完全明确[3], 目前较公认的是机体免疫系统的激活造成炎症及组织损伤, 并与遗传、环境、免疫、感染、心理等因素密切相关[4]. 其临床症状以反复发作的腹痛、腹泻、黏液脓血便为特点, 病程常反复迁延[5], 并有多种肠外表现[6]. 早在20世纪70年代, Kraft等[7]就明确提出炎症性肠病可累及肺脏的观点, 随后国内外陆续有文献报道UC患者肺部病变的发生[8,9], 但UC肺损伤的发病机制至今依然不明确, 相关动物实验研究方面的报道亦较少见[10]. 本实验采用结肠黏膜组织致敏加三硝基苯磺酸-50%乙醇灌肠的方法制作UC大鼠模型, 动态观察此模型肺、结肠组织的病理形态学改变及凋亡调控蛋白Bcl-2、Bax在肺组织中的表达, 从而初步探讨UC大鼠肺损伤的细胞凋亡机制, 进一步探究“肺与大肠相表里”理论.

1 材料和方法

1.1 材料 SPF级健康♂Wistar大鼠66只, 体质量200 g±10 g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司[许可证号SCXK(京)2012-0001], 饲养于北京中医药大学SPF动物实验中心. 健康♂新西兰家兔10只, 体质量2.5 kg左右, 购自北京金牧阳实验动物养殖有限责任公司[许可证号SCXL(京)2010-0001)]; 2,4,6-三硝基苯磺酸(2, 4, 6-trinitrobenzenesulfonic acid, TNBS)购自Sigma公司产品; 完全弗氏佐剂购自Sigma公司产品; 小鼠抗Bax抗体购自Santa Cruz公司; 兔抗Bcl-2抗体购自Santa Cruz公司; 小鼠抗GAPDH单抗购自中杉金桥; 山羊抗小鼠IgG/辣根酶标记购自购自中杉金桥; HRP标羊抗兔IgG二抗购自北京普利莱基

因技术有限公司; 无水乙醇等其他试剂均购自北京化学试剂公司; 湘仪TGL-16台式冷冻离心机购自湖南湘仪离心机仪器有限公司; VCX130PB Sonics超声波细胞破碎仪(美国)购自上海斯高勒生物科技有限公司; HY-2调速多用振荡器购自江苏金坛金城国胜实验仪器厂; 垂直板电泳槽及电转槽购自美国伯乐(bio-rad)公司.

1.2 方法

1.2.1 造模: 模型组大鼠参照宫健伟、段征及景姗等[11-13]制作UC模型的方法, 即肠黏膜组织致敏加三硝基苯磺酸-50%乙醇灌肠的方法复制大鼠UC模型. 选择健康♂新西兰家兔, 以空气栓塞处死, 剖取结肠并刮取结肠黏膜组织, 加等质量生理盐水, 用超声波细胞破碎仪进行组织匀浆, 4 ℃, 3000 r/min离心, 30 min, 取上清, 双缩脲法进行蛋白定量, 加等体积的完全弗氏佐剂, 制备成抗原乳化液. 分别于适应性饲养后第1、15、22天于大鼠双侧腹股沟、足跖部位注射抗原乳化液, 每次每只注射的抗原乳化液含抗原8 mg. 将TNBS配成浓度为120 mg/mL的溶液, TNBS溶液与50%乙醇按体积1∶1混合. 第29天禁食不禁水24 h后以10%水合氯醛(0.35 mL/100 g)腹腔注射麻醉, 三硝基苯磺酸-50%乙醇按TNBS 100 mg/kg体质量灌肠. 用硅胶管(直径2 mm, 长约12 cm)由肛门缓慢地插入至肠腔内8 cm处, 每只0.6-0.8 mL, 快速(5 s内)注入, 并将大鼠倒置约1 min, 使药液达全结肠并防止液体流出.

1.2.2 分组UC大鼠模型制备: 66只大鼠适应性饲养1 wk后, 随机分为6组, 3个观察时间点均设正常组与模型组, 其中正常组均为10只, 模型组均为12只, 正常组与模型组同步观察饲养.

1.2.3 取材: 造模完成后, 将大鼠放回饲养笼内平躺直至自然苏醒, 后饲养于SPF级动物房内, 给予正常饮食, 每日观察大鼠精神状态、进食量、活动度、粪便性状等. 造模完成后第3天(0周)、第2周、第4周末禁食不禁水24 h后, 称质量, 10%水合氯醛(0.35 mL/100 g)腹腔注射麻醉, 于冰上快速摘取肺及肛门上2-15 cm结肠组织, 4 ℃生理盐水冲洗清除肠内容物, 称取结肠、全肺湿质量, 计算结肠、肺质量指数, 肠质量指数 = 结肠湿质量/体质量×100%, 肺质量指数 = 肺湿质量/体质量×100%. 然后取病变较明显处结肠组织约1.0 cm及部分右肺上叶组织, 10%福尔马林溶液固定, 常规石蜡包埋, 5 μm厚组织切片, HE染色, 光学显微镜下观察肺和结肠组织病理学变化. 此外, 收集部分右肺上叶组织置于冻存管内并标记, 于液氮中保存, 用于检测Bcl-2、Bax.

1.2.4 指标观察: 大鼠结肠黏膜组织、肺支气管病理形态学变化, 常规HE染色后光学显微镜下观察各时间点各组组织病理结构变化. Western blot法观察肺组织中Bax、Bcl-2蛋白的表达水平, 包括蛋白提取、电泳和转膜后免疫检测. 第2、4周每组随机选取3个肺组织样品, 每个样品肺组织约50 mg, 将同一时间点同组的3个肺组织样品共约150 mg置于1.5 mL细胞裂解液中, 置于冰水中匀浆, 4 ℃, 12000 r/min, 离心15 min, 取上清, 分装后于-80 ℃保存备用. 将提取的蛋白上清与5×loading buffer 4∶1混合, 置于95 ℃水中煮5 min, 使蛋白变性. 采用10%的SDS-PAGE凝胶进行电泳, 电压80 V, 30 min, 100 V, 1.5 h, 电泳结束后, PVDF膜甲醇中润湿后进行蛋白质转膜, 电流200 mA, 2 h. 用5%脱脂奶粉制成封闭液室温下封闭PVDF膜1 h, 用TBST洗膜3次, 每次10 min. 将膜与溶于TBST中的一抗4 ℃条件下置于摇床上摇动, 孵育过夜, 次日TBST洗膜3次, 每次10 min. 二抗37 ℃孵育2 h, TBST洗膜3次, 每次10 min. 加入超敏发光液(SuperECL plus)反应3 min, 用保鲜膜包裹, 暗室中进行X线胶片曝光、显影和定影. Bax和Bcl-2蛋白分子量分别为23 kDa和26 kDa. GAPDH蛋白作为内参, 该蛋白分子量为36 kDa. 条带用Image J Analysis software计算灰度值, 以目的蛋白与内参GAPDH蛋白的灰度比值来表示目的蛋白表达的相对量. 重复3次实验取平均值.

统计学处理 应用SPSS17.0统计软件, 结果采用mean±SD表示, 采用单因素方差分析, 样本不符合正态分布或方差不齐时采用Wilcoxon Two-Sample Test检验, $P<0.05$为有显著统计学差异, $P<0.01$为有非常显著统计学差异.

2 结果

2.1 各组大鼠一般情况改变 各观察时间点正常组大鼠活动灵活, 反应灵敏, 皮毛润泽, 饮水进食良好, 粪便为褐色粒状且质地较硬, 无黏液脓血, 呼吸平稳正常. 三硝基苯磺酸-50%乙醇灌肠后3 d(第0周), 模型组大鼠大部分出现脓血便, 有黏液, 粪便稀软、不成形, 甚至成水样便, 精神萎靡, 不喜活动, 毛色苍黄枯槁, 饮食量减少, 毛发疏松, 形体消瘦. 2 wk末模型大鼠大部分粪便仍稀软、不成形, 部分夹有脓血、黏液, 倦怠少动, 毛色苍黄少泽, 体质量增长明显慢于正常组.

■相关报道

景姗报道了结肠黏膜组织致敏加三硝基苯磺酸-50%乙醇灌肠诱导复制UC大鼠模型后1 wk, 观察发现肺、结肠组织病理均表现出组织损伤, UC大鼠肺功能异常及sIgA明显降低, 提示肠病及肺.

■创新盛点
本实验通过建立肠黏膜组织致敏加三硝基苯磺酸-50%乙醇灌肠的方法复制大鼠UC模型, 观察UC大鼠肺损伤的病理形态学改变, 凋亡相关蛋白Bcl-2和Bax在肺组织中的表达情况, 初步探究UC肺损伤发生的可能的细胞凋亡机制.

表 1 大鼠结肠湿质量及肠质量指数比较 (mean ± SD)

时间	分组	*n*	结肠湿质量(g)	肠质量指数
第0周	正常	10	1.03 ± 0.19	0.00252 ± 0.000557
	模型	10	1.89 ± 0.39[b]	0.00564 ± 0.00119[b]
第2周	正常	10	1.10 ± 0.081	0.00245 ± 0.000234
	模型	10	2.41 ± 1.24[b]	0.00573 ± 0.00283[b]
第4周	正常	10	1.15 ± 0.22	0.00237 ± 0.000284
	模型	11	2.32 ± 1.32[b]	0.00524 ± 0.00310[b]

[b]*P*<0.01 *vs* 正常组.

表 2 大鼠肺湿重及肺质量指数比较 (mean ± SD)

时间	分组	*n*	肺湿质量(g)	肺质量指数
第0周	正常	10	1.68 ± 0.25	0.00404 ± 0.000399
	模型	10	1.59 ± 0.24	0.00473 ± 0.000634[b]
第2周	正常	10	1.72 ± 0.14	0.00383 ± 0.000433
	模型	10	1.98 ± 0.36[a]	0.00472 ± 0.00104[a]
第4周	正常	10	1.65 ± 0.15	0.00347 ± 0.000444
	模型	11	1.97 ± 0.45[b]	0.00440 ± 0.00106[b]

[a]*P*<0.05, [b]*P*<0.01 *vs* 正常组.

表 3 各组大鼠肺组织中Bax、Bcl-2相对表达量的比较 (mean ± SD)

时间	分组	Bax/GAPDH	Bcl-2/GAPDH	Bcl-2/Bax
第2周	正常	0.521 ± 0.069	1.333 ± 0.114	2.570 ± 0.147
	模型	1.078 ± 0.220[a]	0.947 ± 0.068[b]	0.895 ± 0.129[b]
第4周	正常	0.817 ± 0.179	1.594 ± 0.187	2.036 ± 0.586
	模型	1.491 ± 0.323[a]	0.982 ± 0.128[b]	0.668 ± 0.0678[a]

[a]*P*<0.05, [b]*P*<0.01 *vs* 正常组.

4 wk末模型大鼠粪便仍有部分质地较稀夹有黏液, 反应迟钝, 毛色欠佳.

2.2 动态观察各组大鼠肺、结肠湿质量及质量指数 第0周时模型组大鼠结肠湿质量、肠质量指数与正常组比较显著增加(P = 0.0000, P = 0.0000); 第2周时模型组大鼠结肠湿质量、肠质量指数与正常组比较亦有显著增加(P = 0.0002, P = 0.0002), 第4周时模型组大鼠结肠湿质量、肠质量指数与正常组比较仍有显著增加(P = 0.0043, P = 0.0014, 表1).

第0周时模型组大鼠肺质量指数与正常组比较显著增加(P = 0.0088); 第2周时模型组大鼠肺湿质量、肺质量指数与正常组比较有显著增加(P = 0.0348, P = 0.0267), 第4周时模型组大鼠肺湿质量、肺质量指数与正常组比较仍有显著增加(P = 0.0083, P = 0.0017, 表2).

2.3 组织病理观察

2.3.1 结肠组织病理观察: 病理切片, HE染色, 光学显微镜下观察, 模型组第0周结肠表现为透壁性炎症, 大量炎性细胞浸润, 并浸润黏膜层、黏膜肌层、黏膜下层, 自黏膜层到肌层结构疏松, 黏膜下层水肿, 黏膜固有层腺体萎缩甚至消失, 甚至呈现透壁性坏死, 形成溃疡. 提示大鼠UC发生, 模型制备成功(图1B). 第2周病变较第0周无明显改善, 仍有溃疡、大量炎性细胞浸润(图1D). 第4周时结肠病变较第0周和第2周略有改善, 仍有炎性细胞浸润黏膜层、黏膜下层, 溃疡形成(图1F).

2.3.2 肺组织病理观察: 模型组第0周表现为肺间质炎症, 间质大量炎性细胞浸润, 肺间质充血, 小血栓形成, 小气道损伤, 肺泡间隔增宽, 肺泡变形. 支气管周围、血管周围炎性细胞浸润, 淋巴细胞呈灶状(图1H). 第2、4周模型组大鼠肺组织病理改变无明显改善, 肺间质炎性细胞浸润仍很明显, 血管、支气管外周淋巴细胞呈灶状浸润, 支气管壁增厚变形, 血管壁增厚, 间质纤维组织增生明显, 部分肺组织肺泡融合, 形成肺大泡(图1J, L).

2.4 Bcl-2、Bax在肺组织中的表达 UC模型大鼠第2、4周时, UC模型大鼠肺组织Bcl-2的蛋白表达量与正常组比较有明显的下降(第2周P = 0.0072, 第4周P = 0.0094), Bax的蛋白表达量与正常组比较有明显上升(第2周P = 0.0139, 第4周P = 0.034), Bcl-2/Bax与正常组比较有明显的下降(第2周P = 0.0001, 第4周P = 0.016)(图2, 表3).

3 讨论

中医脏腑表里相关理论的重要组成部分之一“肺与大肠相表里”的理论源自《黄帝内经》. 近现代众多医家在“肺与大肠相表里”理论指导下进行了大量的临床实践和研究[14-17], 但该理论在现代医学研究领域, 特别是通过动物

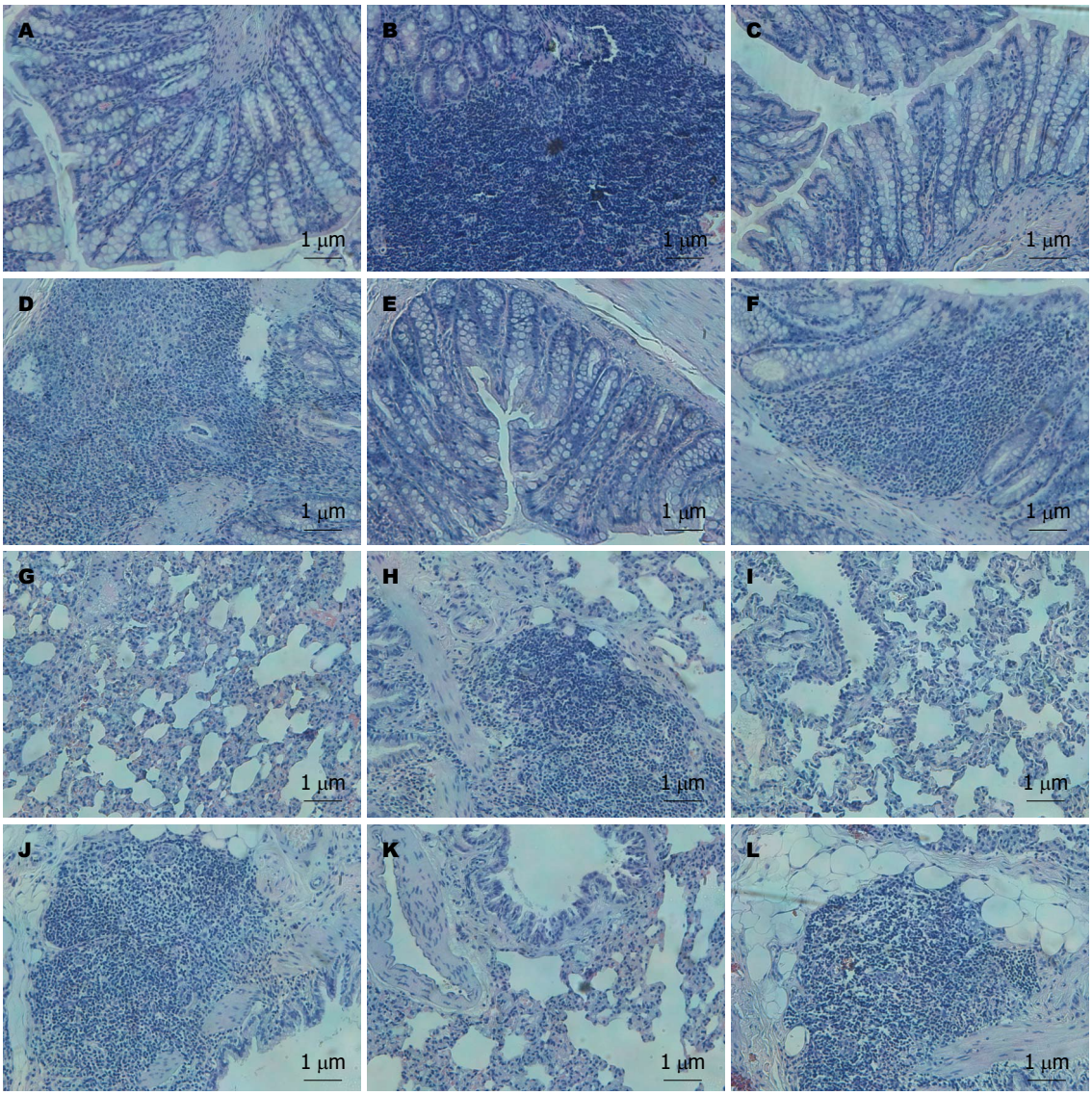


图 1 肺、结肠组织病理图片(HE, ×200). A: 正常组第0周结肠; B: 模型组第0周结肠; C: 正常组第2周结肠; D: 模型组第2周结肠; E: 正常组第4周结肠; F: 模型组第4周结肠; G: 正常组第0周肺; H: 模型组第0周肺; I: 正常组第2周肺; J: 模型组第2周肺; K: 正常组第4周肺; L: 模型组第4周肺.

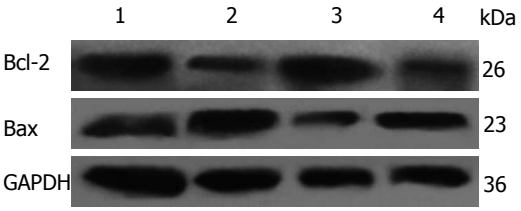


图 2 各组大鼠肺组织Bax、Bcl-2蛋白的表达. 1: 第2周正常组; 2: 第2周模型组; 3: 第4周正常组; 2: 第4周模型组.

实验在分子生物学水平对“肺与大肠相表里”理论的生物学基础研究仍十分欠缺. 《灵枢·本输》中有“肺合大肠, 大肠者, 传导之腑”的记载, “肺合大肠”的理论基础源于肺与大肠在经络上的相互络属. 《灵枢·经脉》: “肺手太阴之脉, 起于中焦, 下络大肠, 还循胃口, 上隔属肺”, “大肠手阳明之脉, 起于大指次指之端……下入缺盆络肺, 下隔属大肠”可见肺与大肠在功能上通过经络建立了紧密的联系. 肺与大肠一脏一腑, 一阴一阳, 表现为生理功能上相得益彰, 互为表里. 肺气宣发肃降正常, 大肠得肺肃降之气的推动, 则大肠传导有节; 大肠传导正常则有助于肺气的宣肃. 同样, 两者在病理也互相影响, 大肠病可及肺, 腑气不通, 浊气上逆犯肺则肺失宣降, 可见咳嗽、咯痰、气促喘鸣等呼吸系统症状. 例如《内经·至真要大论》曰: “寒厥于肠, 上冲胸中, 甚则喘不能久立”, 说明邪犯大肠, 能上逆犯肺致喘, 又有《灵枢·四时气》: “腹中肠鸣, 气上冲胸, 喘不能久立, 邪在大肠”的论述. UC病位在大肠, 其发病病机多为饮

■应用要点

本实验通过对UC大鼠肺组织病理及凋亡相关蛋白的观察, 初步明确细胞凋亡异常可能参与UC肺损伤的发生. 因此, 以干预细胞凋亡信号转导途径为中心, 抑制肺组织细胞凋亡, 可能是UC肺损伤及“肺与大肠相表里”相关研究的主要内容之一, 为临床治疗提供依据.

■同行评价
本文新颖性好, 可读性佳, 为“肠病及肺”提供了理论依据, 为临床UC肺损伤“从肠而治”提供了思路, 对后续研究有很好的启示作用.

食不节、感受外邪或情志失调[18], 导致肺气失于宣肃, 肝气失于调达, 脾胃失于运化, 湿热、积滞等病邪客于肠道, 与肠道气血搏结, 大肠传导失司, 气血凝滞, 脂膜血络损伤, 血败肉腐, 壅滞成脓, 内溃成疡, 而形成本病[19]. UC久病耗气, 势必损伤肺脾之气, 影响肺之宣发肃降, 且肺主治节, 为水之上源, 不能通调水道、下输膀胱, 水液停留而致痰饮积滞.

本实验采用TNBS-乙醇诱导复合结肠黏膜组织致敏UC大鼠模型, 此模型可达到全身免疫异常与局部炎症病变共存, 产生与人类UC较为接近的临床症状及肠道病变, 符合人UC病变由B细胞介导的体液免疫反应和T细胞介导的细胞免疫反应共同作用的病变机制. 本研究发现, 与正常组比较, 模型组肺质量指数显著升高, HE染色肺间质有大量的炎性细胞浸润、支气管壁增厚, 纤维组织增生等病理变化, 提示模型组大鼠可能由于湿热毒邪上扰, 肺气宣肃不利, 不能通调水道, 水液停留, 痰瘀互结, 在一定程度上说明肠病及肺, 从该角度为“肺与大肠相表里”提供了理论基础.

细胞凋亡是由一系列基因控制的细胞主动死亡的过程, 接受来自细胞外部或内部的凋亡信号, 使细胞内编码的自杀程序激活, 从而促发凋亡的过程. 近几年来, 对调控细胞凋亡相关基因的基础研究已受到极大的关注与重视, 因此也成为研究的热点. 其中, 原癌基因Bcl-2蛋白家族是极为重要的一类调控凋亡的因子, 通过该家族成员相互之间或与其他凋亡因子的作用, 发挥调控凋亡的作用. Bcl-2蛋白家族中的各凋亡因子也是在细胞凋亡相关基因的研究中被研究最多的一类凋亡因子[20]. *Bcl-2*基因家族在细胞凋亡的基因调控网络中发挥关键性的作用[21]. *Bcl-2*和*Bax*是凋亡调控基因*Bcl-2*家族的2个重要成员, *Bcl-2*家族中*Bcl-2*基因抑制凋亡, 而*Bax*基因诱发凋亡. *Bcl-2*基因位于染色体18q21, 编码产物分子量为26 kDa的蛋白. Bcl-2的主要生物学功能为延长细胞寿命, 使细胞增加对各种凋亡刺激因素的抵抗性, Schwarz等[22]基因转染实验显示Bcl-2高表达可广泛抑制大多数刺激剂诱导的细胞凋亡. *Bax*基因作为Bcl-2相关X蛋白基因, 通过对抗Bcl-2的活性, 可提高细胞的凋亡敏感性, 能直接促进细胞凋亡, Bcl-2和Bax二者形成一个凋亡调控系统: 当Bax形成同源二聚体时, 诱导凋亡; 随着Bcl-2蛋白表达量上升, Bcl-2和Bax形成异源二聚体, Bcl-2/Bax二者蛋白比例可以调节细胞凋亡的速率, 决定细胞存活或死亡[21]. 因此, 减少Bax表达和升高Bcl-2/Bax比率有利于抵抗细胞凋亡的发生[23-25].

本实验第2、4周UC模型大鼠肺组织Bcl-2蛋白表达水平明显下降, Bax蛋白表达水平明显上升, Bcl-2/Bax比值显著降低, Bcl-2/Bax<1, 细胞凋亡占优势[26], 提示Bcl-2、Bax蛋白表达异常并诱导肺组织细胞凋亡可能是UC肺损伤的重要病理机制之一. 近年来关于Bcl-2、Bax和Caspase-3参与细胞凋亡信号转导的研究进一步深入[27]. Bcl-2、Bax可调控cyt-c的释放和下游Caspase-3蛋白酶的活化,参与对Caspase-3活性的调节[28,29]. 其中, Caspase-3又称为半胱氨酸蛋白酶32(CPP32), 是Caspase家族中重要的效应蛋白酶, 也是多种凋亡途径的共同下游“死亡执行蛋白酶”, 在细胞凋亡的发生过程中发挥关键的作用[30]. 活化后的Caspase-3酶解切割DNA依赖的蛋白激酶和聚腺苷二磷酸核糖多聚酶等, 从而影响细胞DNA复制、转录和损伤修复[31]. 有研究表明, 博莱霉素诱导肺纤维化大鼠肺组织细胞中Bax蛋白表达明显上调, Bcl-2 mRNA及蛋白表达明显减弱, 并且细胞凋亡明显增加[32]. 因此, 本实验中Bcl-2与Bax的异常表达很可能是通过对Caspase-3的异常活化最终介导细胞的存活或死亡.

因此, 以干预细胞凋亡信号转导途径为中心, 抑制肺组织细胞凋亡, 促进炎性细胞凋亡的研究, 可能是UC肺损伤及“肺与大肠相表里”理论相关研究的主要内容之一, 对明确UC肺损伤细胞凋亡的发生机制和“肠病及肺”的现代生物学机制将有较好的启示作用. 然而, UC肺损伤的发病机制十分复杂, 且肺与大肠表里关系是多种物质和机制共同作用的结果, 仅仅从细胞凋亡角度开展研究尚不能全面揭示肺与大肠表里关系的生物学机制内涵, 有待于今后从更广更深层面开展综合性的相关研究.

4 参考文献

1 张姬, 夏冰, 杨桂芳, 李瑾. 溃疡性结肠炎肠猫膜组织CD8、Fas/FasL和Bcl-2/Bax的表达及关系. 世界华人消化杂志 2006; 14: 1795-1798
2 王觅柱, 邬彩虹. 核因子NF-κB与凋亡调控蛋白Bcl-2/Bax在溃疡性结肠炎表达及意义. 内蒙古医学杂志 2010; 42: 1034-1037
3 周枫, 赵海梅, 刘端勇. P38MAPK信号: 治疗溃疡性结肠炎的又一新策略. 江西中医学院学报 2011; 23: 84-86
4 赵旭东, 张薇. 溃疡性结肠炎发病机制研究进展. 现代医药卫生 2008; 24: 1501-1502

5 朱立, 王新月, 于玫, 安贺军. 120例溃疡性结肠炎患者病因及临床特征分析. 中国中医基础医学杂志 2009; 15: 841-842
6 杨雪, 王新月, 朱立. 炎症性肠病的肺部损害及机制探讨. 中国中西医结合消化杂志 2011; 19: 133-136
7 Kraft SC, Earle RH, Roesler M, Esterly JR. Unexplained bronchopulmonary disease with inflammatory bowel disease. *Arch Intern Med* 1976; 136: 454-459 [PMID: 1267553 DOI: 10.1001/archinte.1976.03630040056012]
8 王新月, 孙慧怡. 基于肺与大肠相表里理论探讨从肺论治溃疡性结肠炎. 北京中医药大学学报 2011; 34: 153-155
9 孙慧怡, 王新月, 吴健, 张雯, 刘大铭, 王建云. 溃疡性结肠炎肺功能损害和肺与大肠的表里关联性. 中国中西医结合杂志 2011; 31: 591-594
10 杨雪, 王新月, 朱立, 景姗, 周波, 杨舒. 从肺论治法对溃疡性结肠炎大鼠结肠组织VIP水平的影响及意义. 中国中医基础医学杂志 2011; 17: 282-283
11 宫健伟, 苑述刚, 阮时宝. 对免疫方法制作溃疡性结肠炎动物模型的探讨. 中国实验方剂学杂志 2005; 11: 70-71
12 段征, 汪维伟, 姜蓉. 两种溃疡性结肠炎大鼠模型的比较. 重庆医科大学学报 2008; 33: 66-68
13 景姗, 王新月, 朱立. 从两种溃疡性结肠炎大鼠模型谈肺与大肠相表里. 中华中医药杂志 2011; 26: 1367-1369
14 王仲霞, 刘波. “肺与大肠相表里”的理论及临床研究进展. 北京中医2006; 25: 438-440
15 贾君君, 陈旭, 解秸萍. “肺与大肠相表里”的现代研究概况. 中医药学报 2006; 34: 23-25
16 傅理均, 倪建江. 浅谈通便在肺系病证中的应用. 江西中医药 2007; 38: 16-17
17 丘梅清. “肺与大肠相表里”的理论在肺胀治疗中的应用. 黑龙江中医药 1997; 5: 9-10
18 王艳辉. 痛泻要方和四神丸加味治疗溃疡性结肠炎. 中国医疗前沿2009; 8: 45
19 王新月, 田德禄. 溃疡性结肠炎病因病理特点与中医辨治思路对策. 北京中医药大学学报 2007; 30: 554-555
20 Ishii HH, Gobe GC, Yoneyama J, Mukaide M, Ebihara Y. Role of p53, apoptosis, and cell proliferation in early stage Epstein-Barr virus positive and negative gastric carcinomas. *J Clin Pathol* 2004; 57: 1306-1311 [PMID: 15563673 DOI: 10.1136/jcp.2003.015081]
21 Cvejic D, Selemetjev S, Savin S, Paunovic I, Petrovic I, Tatic S. Apoptosis and proliferation related molecules (Bcl-2, Bax, p53, PCNA) in papillary microcarcinoma versus papillary carcinoma of the thyroid. *Pathology* 2008; 40: 475-480 [PMID: 18604733 DOI: 10.1080/00313020802026989]
22 Schwarz M, Andrade-Navarro MA, Gross A. Mitochondrial carriers and pores: key regulators of the mitochondrial apoptotic program? *Apoptosis* 2007; 12: 869-876 [PMID: 17453157]
23 Merritt AJ, Potten CS, Watson AJ, Loh DY, Nakayama K, Nakayama K, Hickman JA. Differential expression of bcl-2 in intestinal epithelia. Correlation with attenuation of apoptosis in colonic crypts and the incidence of colonic neoplasia. *J Cell Sci* 1995; 108: 2261-2271 [PMID: 7673346]
24 Itoh J, de La Motte C, Strong SA, Levine AD, Fiocchi C. Decreased Bax expression by mucosal T cells favours resistance to apoptosis in Crohn's disease. *Gut* 2001; 49: 35-41 [PMID: 11413108 DOI: 10.1136/gut.49.1.35]
25 张文俊, 李兆申, 许国铭, 龚燕芳, 满晓华, 屠振兴. 细胞凋亡调控蛋白Bcl-2和Bax在溃疡性结肠炎表达的研究. 中华消化内镜杂志 2003; 20: 262-264
26 祝鹏辉, 雷蕾, 王晓梅. 溃结宁合剂对溃疡性结肠炎大鼠结肠组织Bcl-2及Bax表达的影响. 实用中医药杂志 2011; 27: 740-741
27 董雅洁, 高维娟. Bcl-2、bax、caspase-3在细胞凋亡中的作用及其关系. 中国老年学杂志 2012; 32: 4828-4830
28 Zhao H, Yenari MA, Cheng D, Sapolsky RM, Steinberg GK. Bcl-2 overexpression protects against neuron loss within the ischemic margin following experimental stroke and inhibits cytochrome c translocation and caspase-3 activity. *J Neurochem* 2003; 85: 1026-1036 [PMID: 12716434]
29 Kawatani M, Imoto M. Deletion of the BH1 domain of Bcl-2 accelerates apoptosis by acting in a dominant negative fashion. *J Biol Chem* 2003; 278: 19732-19742 [PMID: 12644466]
30 Odonkor CA, Achilefu S. Modulation of effector caspase cleavage determines response of breast and lung tumor cell lines to chemotherapy. *Cancer Invest* 2009; 27: 417-429 [PMID: 19241192 DOI: 10.1080/07357900802438585]
31 Hashimoto S, Setareh M, Ochs RL, Lotz M. Fas/Fas ligand expression and induction of apoptosis in chondrocytes. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 1749-1755 [PMID: 9336406 DOI: 10.1002/art.1780401004]
32 江瑛, 祁鑫, 王丽京, 邱桐. 博莱霉素肺损伤大鼠细胞凋亡及bcl-2/bax基因的表达. 西北师范大学学报(自然科学版) 2001; 2: 65-70

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2013年5月8日; 21(13): 1178-1184
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床研究 CLINICAL RESEARCH

肝硬化并产超广谱β内酰胺酶大肠埃希菌感染的抗生素治疗

刘钰佩, 梁树人, 郭朝辉, 李顺天, 李 嘉

■背景资料
肝硬化患者由于自身基础差及产超广谱β内酰胺酶(extended-spectrum beta-lactamase, ESBLs)大肠埃希菌对部分抗菌药物的耐药性不断增加, 导致患者发生自发性细菌性腹膜炎、败血症及其他感染的机率升高并可反复出现感染. 目前在临床上肝硬化合并感染患者经验性选用抗菌药物仍主要以三代头孢为主的抗菌药物, 其疗效并不理想.

刘钰佩, 郭朝辉, 李嘉, 天津医科大学研究生院 天津市 300070
刘钰佩, 梁树人, 李顺天, 李嘉, 天津市第二人民医院 天津市肝病研究所 天津市 300192
刘钰佩, 主要从事传染病的防治工作.
作者贡献分布: 刘钰佩与李嘉对此文所作贡献均等; 此课题由刘钰佩、李嘉及梁树人设计; 研究过程由刘钰佩与郭朝辉操作完成; 研究所用新试剂与分析工具由李顺天提供; 数据分析由刘钰佩与郭朝辉完成; 本论文写作由刘钰佩完成.
通讯作者: 李嘉, 主任医师, 300192, 天津市南开区苏堤南路7号, 天津市第二人民医院. lijiadoctor1968@gmail.com
电话: 022-27468230
收稿日期: 2013-02-20 修回日期: 2013-03-11
接受日期: 2013-04-19 在线出版日期: 2013-05-08

Antibiotic application in cirrhotic patients with extended-spectrum β-lactamase producing *E. coli* infection

Yu-Pei Liu, Shu-Ren Liang, Zhao-Hui Guo, Shun-Tian Li, Jia Li

Yu-Pei Liu, Zhao-Hui Guo, Jia Li, Postgraduate School, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China
Yu-Pei Liu, Shu-Ren Liang, Shun-Tian Li, Jia Li, Tianjin Second People's Hospital, Tianjin Hepatopathy Research Institute, Tianjin 300192, China
Correspondence to: Jia Li, Chief Physician, Tianjin Second People's Hospital, 7 Sudi South Road, Nankai District, Tianjin 300192, China. lijiadoctor1968@gmail.com
Received: 2013-02-20 Revised: 2013-03-11
Accepted: 2013-04-19 Published online: 2013-05-08

Abstract

AIM: To investigate the antibiotic application in cirrhotic patients with extended-spectrum β-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* (*E. coli*) infection.

METHODS: The data for cirrhotic inpatients with ESBL-producing *E. coli* infection from 2006 to 2011 were collected, and demographic profiles, clinical characteristics, and efficacy of anti-infection treatment were retrospectively analyzed.

RESULTS: A total of 911 infections were found among 4065 cirrhotic patients, of whom 455 were culture-positive. Fifty cirrhotic patients had ESBL-producing *E. coli* infection. Quinolones (mainly levofloxacin) were primarily used in 23 (46%) cases, third-generation cephalosporins in 16 (32%) cases, and β-lactam/β-lactamase inhibitors in 11 (22%) cases. These three groups of patients showed no significant difference in the clinical outcome ($P > 0.05$). A switch to another antibiotic was found in 28 (56%) cases. Twenty-two cases (56%) responded to antibiotic therapy, 13 cases (26%) did not respond, and nine cases (18%) died. Compared to the death group, the survival group had significantly different Child-Pugh A ($P < 0.05$) and initial use of quinolones ($P < 0.05$). Compared to the non-response group, the response group had significantly different Child-Pugh C ($P < 0.05$) and bacteremia ($P < 0.05$). Neither hepatic encephalopathy nor upper gastrointestinal hemorrhage differed significantly between the survival and death group.

CONCLUSION: The efficacy of initial use of empirical antibiotics is very low in cirrhotic patients with ESBL-producing *E. coli* infection. Compared to third-generation cephalosporins, quinolones are more effective as the first treatment. Liver function-protecting support therapy should be strengthened when treating such infection. Accurate bacterial identification and antimicrobial susceptibility test should be performed to provide timely targeted therapy.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Cirrhosis; *Escherichia coli*; Extended-spectrum beta-lactamase; Antibiotics

Liu YP, Liang SR, Guo ZH, Li ST, Li J. Antibiotic application in cirrhotic patients with extended-spectrum β-lactamase producing *E. coli* infection. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(13): 1178-1184 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1178.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i13.1178

摘要

目的: 了解肝硬化患者合并产超广谱β内酰胺酶(extended-spectrum beta-lactamase, ESBL)大肠埃希菌感染的抗生素应用情况.

方法: 收集2006-2011年我院住院肝硬化合并产ESBLs大肠埃希菌感染患者的资料, 对患者

■同行评议者
李勇, 副教授, 上海中医药大学附属市中医医院消化科

的基本情况、临床特征、抗感染治疗及疗效进行回顾性分析.

结果: 4065例次肝硬化住院患者共发生911例次感染, 感染部位细菌培养阳性患者455例, 其中共有50例肝硬化无重复合并产ESBLs的大肠埃希菌感染患者, 有23(46%)例患者首用喹诺酮类(主要为左氧氟沙星), 16(32%)例首用三代头孢, 11(22%)例首用β内酰胺类/β内酰胺酶抑制剂(以下简称酶抑制剂), 3组患者临床转归未见明显差异(P>0.05). 56%的患者换用抗生素. 出院时28(56%)例治疗有效, 13(26%)例未愈, 死亡9(18%)例. 感染患者生存组与死亡组相比, 肝硬化分级Child-Pugh A(P<0.05)、首用喹诺酮(P<0.05)两者存在显著差异(P<0.05). 治疗有效组与无效组相比, 菌血症(P<0.05)、肝硬化分级Child-Pugh C(P<0.05)存在明显差异. 肝性脑病、上消化道出血在生存与死亡组差异不明显.

结论: 肝硬化产ESBLs大肠埃希菌初始经验应用抗生素疗效有效率较低. 喹诺酮类较三代头孢更适合第一线用药. 抗感染的同时应积极予保肝支持治疗. 微生物室应及时提供准确的细菌鉴定和药敏报告, 为临床进行靶向治疗提供依据.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 肝硬化; 大肠埃希菌; 产超广谱β内酰胺酶; 抗生素

核心提示: 肝硬化产超广谱β内酰胺酶大肠埃希菌初始经验应用抗生素疗效有效率较低. 喹诺酮类较三代头孢更适合第一线用药. 微生物室应及时提供准确的细菌鉴定和药敏报告, 为临床进行靶向治疗提供依据.

刘钰佩, 梁树人, 郭朝辉, 李顺天, 李嘉. 肝硬化并产超广谱β内酰胺酶大肠埃希菌感染的抗生素治疗. 世界华人消化杂志 2013; 21(13): 1178-1184 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1178.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i13.1178

0 引言

肝硬化患者全身及局部免疫功能低下、肠道菌群失调和肠黏膜屏障降低, 长期门诊随访、反复多次住院均可导致患者可反复发生自发性细菌性腹膜炎和败血症及提高其他感染的发生几率, 从而增加了抗菌药物尤其是三代头孢菌素的使用率. 目前在临床上肝硬化合并感染患者经验性选用抗菌药物主要为三代头孢或喹诺酮类抗菌药物[1-3], 而疗效并不是很理想, 分析原因除了与患者本身伴有的严重基础病及并发症等因素有关外, 耐药率的提高也应是影响预后的重要因素之一.

多重耐药菌引起的感染治疗失败、感染性休克、院内死亡率的发生率高[4,5], 这是因为目前推荐的经验性的抗生素治疗以第三代头孢抗生素和阿莫西林克拉维酸为主, 延误了初始有效的治疗, 在医院感染的患者抗感染疗效失败的概率更高, 产超广谱β内酰胺酶(extended-spectrum beta-lactamase, ESBL)肠杆菌感染在肝硬化多重耐药菌感染患者中所占比例最高[6]. 本文拟对我院2006-2011年合并产ESBLs阳性大肠埃希菌感染肝硬化患者中抗生素应用规律及临床疗效进行分析.

1 材料和方法

1.1 材料 某三级甲等传染病专科医院, 主要收治各型肝炎、肝硬化及肝癌患者. 以2006-2011年在我院住院的肝硬化合并经腹水、血、尿液、痰等培养证明为产ESBLs大肠埃希菌感染患者50例为研究对象, 对患者的临床资料进行回顾分析研究, 研究期间我院无产ESBLs大肠埃希菌感染暴发流行.

1.2 方法

1.2.1 一般情况: 收集患者的客观资料(年龄、性别等)、基础疾病、合并疾病、既往医疗保健、肝硬化Child-pugh评分、感染地点、抗生素应用情况、抗感染临床疗效等.

1.2.2 诊断标准: 肝硬化的诊断符合2000年(西安)全国传染病与寄生虫病和肝病学术会议修订的“病毒性肝炎防治方案”的标准. 自发性腹膜炎是指患者腹水常规检查多形核细胞计数≥250/mm^3, 排除腹腔穿孔及其他原因所致的继发性腹膜感染患者. 原发性菌血症定义为有寒战、发热等症状, 并且血培养至少一种病原菌阳性, 没有其他感染灶. 继发性菌血症是指在其合并他部位感染的同时, 血培养至少一种病原菌阳性. 泌尿系感染定义为正规清洁中段尿细菌定量培养菌落≥10^5/mL并且清洁离心中段尿沉渣白细胞数≥10个/高倍视野或有泌尿系感染症状者. 肺部感染定义为具有呼吸道感染的症状和体征, 放射性影像学检查提示肺部炎症反应和/或痰、血标本培养致病菌阳性. 医院感染诊断标准按卫生部2001年下发的《医院感染诊

■相关报道

有研究提示产ESBLs肠杆菌是肝硬化患者中最常见的多重耐药菌. 医院感染、长期应用诺氟沙星预防、多重耐药菌近期感染和最近应用β内酰胺类抗生素是多重耐药菌产生的独立危险因素. Skippen等研究认为先前抗生素使用、住院时间>15 d、入住ICU等是导致产ESBLs肺炎克雷伯菌和大肠杆菌感染的独立危险因素.

■创新盘点
本文系统分析了近年感染产ESBLs的大肠杆菌的抗菌药物耐药情况、抗菌治疗疗效及临床结局，为合并感染的肝硬化人群初始选择抗菌药物提供依据.

表 1 2006-2011年肝硬化合并感染患者病原菌分布 (*n*)

	株数
大肠埃希菌	167
肺炎克雷伯菌	98
葡萄球菌属	85
铜绿假单胞菌	43
阴沟肠杆菌	35
其他	27
合计	455

断标准(试行)》确定, 出院时抗感染治疗有效被定义为患者出院时感染症状明显缓解或消失, 相应的化验检查指标明显趋于恢复正常或已正常. 抗感染治疗未愈被定义为患者出院前感染症状或相应指标未消失, 抗感染治疗无效者包括未愈和死亡的患者, 排除抗感染治疗不满72 h的患者.

1.2.3 细菌鉴定和药敏试验: 细菌分离培养按照《全国临床检验操作规程》进行, 用法国生物梅里埃公司的Vitek-2型微生物分析仪进行菌株鉴定、体外药物敏感试验及ESBLs确定, 仪器不确定者, 再按美国临床和实验室标准化协会(Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI)推荐的纸片扩散确证法确定产ESBLs菌株, 质控菌株为大肠埃希菌ATCC51466, 药敏纸片为英国OXOID公司生产.

1.2.4 抗生素应用: 肝硬化合并感染患者抗感染经验用药主要依据我国抗生素应用指南, 对肝硬化患者常见的合并感染包括自发性腹膜炎、尿路感染、菌血症及肺炎等, 选择覆盖常见病原菌谱的广谱抗生素三代头孢抗生素或喹诺酮类, 在48或72 h后及时评价抗感染疗效并根据细菌培养结果调整抗生素应用. 若患者48或72 h抗感染治疗有效, 不论细菌培养结果如何, 继续使用先前所使用抗生素治疗; 若患者48或72 h抗感染疗效不佳, 则根据细菌培养结果调整抗生素, 结果未回报的根据经验换药.

统计学处理 统计处理采用SPSS16.0软件, 多组均数比较采用方差分析, 计数资料比较采用Fisher精确检验, $P<0.05$为差异具有统计学有意义.

2 结果

2.1 患者基本情况 2006-2011年共有4065例次肝硬化住院患者, 共发生911例次感染, 感染率为22.4%. 感染部位细菌培养阳性患者455例, 病原菌分布见表1, 其中50例为合并产ESBLs阳性大肠埃希菌培养阳性的感染患者, 无重复感染患者(包括同一患者不同部位感染), 产ESBLs阳性大肠埃希菌感染率约为11.0%, 较实际感染率低. 50例合并产ESBLs阳性大肠埃希菌肝硬化患者基本情况见表1. 初始感染包括自发性腹膜炎、尿路感染、原发性菌血症、肺部感染, 分别占58%、16%、16%和10%，继发性菌血症共10例, 其中自发性腹膜炎合并菌血症6例, 肺炎、尿路感染合并继发菌血症感染各2例, 首用三代头孢、首用喹诺酮在4组感染患者中分别存在显著差异($P<0.05$), 尿路感染中全部为女性肝硬化患者, 4组感染患者在抗生素应用和临床转归之间没有显著差异($P>0.05$, 表2).

2.2 大肠杆菌标本来源及耐药 主要从患者4个部位中分离到细菌, 其中腹水有29例, 血液有18例, 尿液有9例, 痰有6例, 腹水和血培养同时阳性的有6例, 痰、尿液与血培养同时阳性的各2例, 培养菌种均为单一菌. 所有产ESBLs菌株均由分析仪确定, 产ESBLs阳性大肠埃希菌药敏实验结果(表3). 药敏试验结果显示, 体外抗菌药物敏感率最高的为亚胺培南(0%), 其次为呋喃妥因(6.91%), 对头孢吡肟发生耐药的比例最高(95.8%), 其次为头孢唑林(95.7%), 根据药敏试验结果, 其中16例病例选择抗菌药物治疗有效(复查未检出菌为标准)的有10例, 占62. 5%.

2.3 抗生素应用 首用三代头孢类抗生素组16例患者, 首用喹诺酮组23例, 首用酶抑制剂组11例, 均为单联用药. 3组之间换药率没有明显差别($P>0.05$), 3组抗菌药物应用患者的临床结局之间没有显著区别; 社区感染与医院感染患者在首用抗生素、肝硬化Child-pugh分级及死亡率之间没有显著区别; 换用三代头孢和喹诺酮与换用酶抑制剂和亚胺培南后抗感染疗效转归没有明显差异($P>0.05$).

2.4 临床转归的单因素分析 肝硬化分级Child-pugh A、首用喹诺酮在生存组与死亡组感染患者间提示存在显著差异($P<0.05$, 表4). 抗感染最终结局有效与无效危险单因素分析提示菌血症、肝硬化分级Child-pugh C存在明显差异($P<0.05$); 肝性脑病、上消化道出血在生存与死亡两组之间差异不明显(表5).

3 讨论

肝硬化患者免疫系统异常和细菌移位导致局部免疫反应改变, 细菌过度生长, 易合并细菌感染[7].

表 2 4组不同类型感染患者基本情况 (*n*)

	自发性腹膜炎	尿路感染	原发性菌血症	肺炎	*P*值
n	29	8	8	5	
年龄(岁)	55 ± 3	60 ± 4	53 ± 2	55 ± 3	0.712
男/女	15/14	0/8	6/2	4/1	0.008
HBV/HCV/免疫性/酒精性	26/3/0/0	4/2/1/1	5/2/0/1	3/1/1/0	0.137
医院感染	13	4	3	2	0.961
2型糖尿病	5	2	2	0	0.65
原发性肝癌	3	0	3	2	0.122
肝肾综合征	5	1	0	1	0.633
肝性脑病	6	2	0	0	0.330
上消化道出血	5	1	0	0	0.470
Child-pugh分级 A/B/C	0/11/18	4/2/2	2/3/3	2/2/1	0.014
前三月抗生素应用	20	5	4	2	0.549
首用三代头孢	12	2	1	1	0.039
首用喹诺酮	8	5	7	3	0.013
首用酶抑制剂	9	1	0	1	0.254
换用三代头孢	2	1	1	0	0.337
换用喹诺酮	4	1	0	0	0.631
换用酶抑制剂	3	2	0	3	0.164
换用亚胺培南	8	0	1	2	0.355
有效/未愈/死亡	15/8/6	6/0/2	5/2/1	2/3/0	0.359

■应用要点

喹诺酮类组的换药率低于三代头孢类抗生素, 并且喹诺酮类组患者死亡率明显低于其他两组, 因此在经验选用抗菌药物时, 应提高喹诺酮类药物在初始经验用药中的应用率.

表 3 50例产ESBLs大肠埃希菌耐药情况

	敏感(*n*)	中介(*n*)	耐药(*n*)	耐药率(%)
丁胺卡那霉素	16	1	19	52.7
妥布霉素	27	13	12	23.07
氨苄西林	12	1	37	74.0
氨苄西林舒巴坦	2	12	36	72.0
哌拉西林舒巴坦	34	8	4	8.6
环丙沙星	21	0	26	55.3
左氧氟沙星	20	0	28	58.3
头孢唑林	1	1	45	95.7
头孢呋辛钠	2	0	27	93.1
头孢呋辛酯	13	0	16	55.2
头孢曲松	2	0	31	93.9
头孢他啶	0	0	24	100
头孢吡肟	1	0	23	95.8
亚胺培南	40	0	0	0.0
呋喃妥因	27	0	2	6.91
复方新诺明	5	0	33	86.8
庆大霉素	14	0	27	65.9

表 4 生存组与死亡组患者单因素分析 *n*(%)

	生存	死亡	*P*值
n	41	9	
自发性腹膜炎	22(53.7)	7(77.8)	0.184
菌血症	13(31.7)	5(55.6)	0.177
医院感染	19(46.3)	3(33.3)	0.477
Child-pugh分级A	8(19.5)	0	0.002
Child-pugh分级B	16(39.0)	2(22.2)	0.342
Child-pugh分级C	17(41.5)	7(77.8)	0.282
原发性肝细胞癌	8(19.5)	1(11.1)	0.552
肝性脑病	5(12.2)	3(33.3)	0.887
上消化道出血	4(9.76)	2(22.2)	0.297
肝肾综合征	6(14.63)	3(33.3)	0.186
首用头孢	11(26.8)	5(55.6)	0.094
首用喹诺酮	22(53.7)	1(11.1)	0.020
首用酶抑制剂	8(19.5)	3(33.3)	0.365
换用酶抑制剂	8(19.5)	0(0)	0.148
换用亚胺培南	9(22.0)	2(22.2)	0.986

相关文献报道常见的感染有自发性腹膜炎约占25%, 尿路感染约占20%, 肺炎约占15%, 菌血症约占12%, 其余为蜂窝织炎和其他感染[8-13]. 有研究提示产ESBLs肠杆菌是肝硬化患者中最常见的多重耐药菌. 医院感染、长期应用诺氟沙星预防、多重耐药菌近期感染和最近应用β内酰胺类抗生素是多重耐药菌产生的独立危险因素. Skippen等[14]研究认为先前抗生素使用、住院时间>15 d、入住ICU等是导致产ESBLs肺炎克雷伯菌和大肠杆菌感染的独立危险因素, 本研究资料中62%的患者住院前3 mo内曾经应用抗生素.

产ESBLs主要由肠杆菌科细菌产生, 以大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌为常见, 携带*ESBLs*

■同行评价
本文通过系统回顾分析方法，对肝硬化合并产ESBLs大肠埃希菌感染患者抗炎治疗疗效及临床结局进行了统计学分析，有一定临床意义.

表 5 有效组与无效组患者单因素分析 *n*(%)

	有效	无效	*P*值
n	28	22	
自发性腹膜炎	17(60.7)	12(54.5)	0.611
菌血症	6(21.4)	12(54.5)	0.015
医院感染	15(53.6)	7(31.8)	0.124
Child-pugh分级A	8(28.6)	0	0.704
Child-pugh分级B	12(42.9)	4(18.2)	0.063
Child-pugh分级C	19(67.9)	7(31.8)	0.002
原发性肝细胞癌	5(17.9)	3(13.6)	0.686
肝性脑病	4(14.3)	4(18.2)	0.709
上消化道出血	3(10.7)	3(13.6)	0.752
肝肾综合征	4(14.3)	5(22.7)	0.441
首用头孢	8(28.6)	8(36.4)	0.558
首用喹诺酮	14(50)	9(40.9)	0.522
首用酶抑制剂	6(21.4)	5(16.7)	0.912
换用酶抑制剂	6(21.4)	2(9.1)	0.238
换用亚胺培南	4(14.3)	7(31.8)	0.137

基因的质粒可同时携带氨基糖苷类、四环素类、氯霉素类、磺胺类及氟喹诺酮类等耐药基因[15], 通过接合、转化和转导等形式使耐药基因在细菌中扩散. 研究表明喹诺酮的耐药性可以由产ESBLs质粒携带喹诺酮耐药基因的转座子传播[16]. 临床研究结果提示, 相比其他种类的抗菌药物, 碳青霉烯类抗生素治疗产ESBLs细菌严重感染的临床疗效更为显著. 一项国际多中心研究项目中, Paterson等[17]前瞻性收集了455例肺炎克雷伯菌菌血症患者的数据, 其中85例由产ESBLs菌株引起, 相比其他抗菌药物, 用碳青霉烯类抗生素治疗可显著降低14%的死亡率. 有研究[18-25]分析已发表的前瞻性队列研究文献得出, 当阿莫西林克拉维酸或哌拉西林/三唑巴坦体外实验证实敏感时可以替代碳青霉烯类抗生素治疗产ESBLs大肠埃希菌菌血症且疗效肯定. 本研究中50例合并产ESBLs大肠埃希菌感染患者初始经验使用三代头孢32%, 喹诺酮46%, 而换用抗生素中酶抑制剂和亚胺培南的应用率仅为68%, 酶抑制剂和亚胺培南在初始经验用药和换药的应用率明显不足. 首用三代头孢和喹诺酮在各感染比例中存在明显差异, 可能是由于过分依赖经验用药, 自发性腹膜炎的抗感染治疗过分依赖三代头孢抗生素. 本研究中自发性腹膜炎、尿路感染、原发性菌血症、肺部感染, 首用三代头孢、首用喹诺酮在4组感染患者中分别存在显著差异($P<0.05$), 4组感染患者在抗生素应用和临床转归之间没有显著差异. 第三代头孢菌素是首选的抗生素, 多数患者可获得治愈. 但近年来, 由于广泛大量应用第三代头孢菌素以及产ESBLs的大肠杆菌菌株的出现, 第三代头孢菌素对其耐药性逐年增加. 由耐药菌株感染者可选用哌拉西林舒巴坦或亚胺培南治疗[26].

本研究资料感染患者生存组与死亡组单因素分析提示肝硬化分级Child-pugh A、首用喹诺酮存在显著差异, 抗感染最终结局好转组与无效组单因素分析提示菌血症、肝硬化分级Child-pugh C存在显著差异. 细菌对喹诺酮类抗菌药的耐药率较高, 世界各地的报道的耐药率从55%到100%不等[27]. 质粒介导的喹诺酮类耐药基因与编码ESBLs的基因有关联, 这种现象在肠杆菌科细菌中普遍存在, 其中以*qnrB*基因为主[28], 因此在治疗产ESBLs细菌感染时喹诺酮类的药物作用非常有限, 但若体外实验证实菌株对喹诺酮类药物敏感, 则可用喹诺酮类药物联合其他类抗生素治疗细菌感染, 而β内酰胺类抗生素体外实验证实敏感也不能应用, 因为产ESBLs细菌可能对多数β内酰胺类抗生素存在接种效应. 由本研究资料中产ESBLs大肠埃希菌的药敏试验可以得知, 左氧氟沙星的耐药率为58.3%, 低于国内其他地区药敏实验的耐药率[29], 喹诺酮类组的换药率低于三代头孢类抗生素, 且喹诺酮类组患者死亡率明显低于其他两组, 因此在经验选用抗菌药物时, 应提高喹诺酮类药物在初始经验用药中的应用率.

肝硬化Child-pugh分级是反应肝硬化患者病情和预后的国际公认的标准, 住院患者的临床转归与其密切相关, 抗感染疗效也会受其影响. 因此本研究可能存在偏倚, 感染患者的临床预后不佳可能与感染本身无直接关系, 而是病情本身造成的, 这需要进一步的研究. 本研究中8例产ESBLs尿路感染均为老年女性患者, 可能与其女性泌尿道特殊的解剖结构有关. 国外有研究报道鉴于产ESBLs尿路感染患者的增多, 大肠埃希菌的耐药性增加, 磷霉素或者是呋喃妥因可作为初始经验性的社区获得尿路感染患者[30,31]. 本研究资料显示产ESBLs大肠埃希菌的呋喃妥因的耐药率为6.91%, 低于哌拉西林他唑巴坦. 尿路感染的微生物多由革兰阴性杆菌引起,可给予第三代喹诺酮类药物诺氟沙星、氧氟沙星、环丙沙星或者传统有效的增效磺胺甲基异恶唑, 因为这些药物能明显抵抗革兰阴性菌, 并在尿液的浓度很高.

本研究尚存在许多不足, 未对48 h或72 h的临床抗感染疗效进行评价, 未对患者换用抗生素时的临床特征进行分析. 且纳入病例数较少, 未进行多因素逻辑回归分析, 对感染患者的临床转归危险因素缺乏一定的说服力. 因为是回顾性研究, 尚有许多因素不可控制, 这都是以后的研究中需要注意的问题.

4 参考文献

1 Fernández J, Gustot T. Management of bacterial infections in cirrhosis. *J Hepatol* 2012; 56 Suppl 1: S1-12 [PMID: 22300459 DOI: 10.1016/S0168-8278(12)60002-6]

2 Bellot P, Jara Pérez López N, Martínez Moreno B, Such J. [Current problems in the prevention and treatment of infections in patients with cirrhosis]. *Gastroenterol Hepatol* 2010; 33: 729-740 [PMID: 20444525 DOI: 10.1016/j.gastrohep.2010.02.004]

3 Liu BM, Chung KJ, Chen CH, Kung CT, Ko SF, Liu PP, Chang HW. Risk factors for the outcome of cirrhotic patients with soft tissue infections. *J Clin Gastroenterol* 2008; 42: 312-316 [PMID: 18223491 DOI: 10.1097/MCG.0b013e31802dbde8]

4 Fernández J, Acevedo J, Castro M, Garcia O, de Lope CR, Roca D, Pavesi M, Sola E, Moreira L, Silva A, Seva-Pereira T, Corradi F, Mensa J, Ginès P, Arroyo V. Prevalence and risk factors of infections by multiresistant bacteria in cirrhosis: a prospective study. *Hepatology* 2012; 55: 1551-1561 [PMID: 22183941 DOI: 10.1002/hep.25532]

5 Cheong HS, Kang CI, Lee JA, Moon SY, Joung MK, Chung DR, Koh KC, Lee NY, Song JH, Peck KR. Clinical significance and outcome of nosocomial acquisition of spontaneous bacterial peritonitis in patients with liver cirrhosis. *Clin Infect Dis* 2009; 48: 1230-1236 [PMID: 19302016 DOI: 10.1086/597585]

6 Vilstrup H. Cirrhosis and bacterial infections. *Rom J Gastroenterol* 2003; 12: 297-302 [PMID: 14726975]

7 Talwani R, Gilliam BL, Howell C. Infectious diseases and the liver. *Clin Liver Dis* 2011; 15: 111-130 [PMID: 21111996 DOI: 10.1016/j.cld.2010.09.002]

8 Navasa M, Rodés J. Bacterial infections in cirrhosis. *Liver Int* 2004; 24: 277-280 [PMID: 15287849]

9 Yang YY, Lin HC. Bacterial infections in patients with cirrhosis. *J Chin Med Assoc* 2005; 68: 447-451 [PMID: 16265857]

10 Papp M, Farkas A, Udvardy M, Tornai I. [Bacterial infections in liver cirrhosis]. *Orv Hetil* 2007; 148: 387-395 [PMID: 17344166]

11 Borzio M, Salerno F, Piantoni L, Cazzaniga M, Angeli P, Bissoli F, Boccia S, Colloredo-Mels G, Corigliano P, Fornaciari G, Marenco G, Pistarà R, Salvagnini M, Sangiovanni A. Bacterial infection in patients with advanced cirrhosis: a multicentre prospective study. *Dig Liver Dis* 2001; 33: 41-48 [PMID: 11303974]

12 Mathurin S, Chapelet A, Spanevello V, Sayago G, Balparda C, Virga E, Beraudo N, Bartolomeo M. [Infections in hospitalized patients with cirrhosis]. *Medicina* (B Aires) 2009; 69: 229-238 [PMID: 19435695]

13 Almeida D, Lopes AA, Santos-Jesus R, Paes I, Bittencourt H, Paraná R. Comparative study of bacterial infection prevalence between cirrhotic patients with and without upper gastrointestinal bleeding. *Braz J Infect Dis* 2001; 5: 136-142 [PMID: 11506777]

14 Skippen I, Shemko M, Turton J, Kaufmann ME, Palmer C, Shetty N. Epidemiology of infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella spp.: a nested case-control study from a tertiary hospital in London. *J Hosp Infect* 2006; 64: 115-123 [PMID: 16859810]

15 罗燕萍, 张秀菊, 徐雅萍, 田芳, 沈定霞. 产超广谱β-内酰胺酶肺炎克雷伯菌和大肠埃希菌的分布及其耐药性研究. 中华医院感染学杂志 2006; 16: 101-104

16 Mammeri H, Van De Loo M, Poirel L, Martinez-Martinez L, Nordmann P. Emergence of plasmid-mediated quinolone resistance in Escherichia coli in Europe. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 71-76 [PMID: 15616277]

17 Paterson DL, Ko WC, Von Gottberg A, Mohapatra S, Casellas JM, Goossens H, Mulazimoglu L, Trenholme G, Klugman KP, Bonomo RA, Rice LB, Wagener MM, McCormack JG, Yu VL. Antibiotic therapy for Klebsiella pneumoniae bacteremia: implications of production of extended-spectrum beta-lactamases. *Clin Infect Dis* 2004; 39: 31-37 [PMID: 15206050]

18 Rodríguez-Baño J, Navarro MD, Retamar P, Picón E, Pascual Á. β-Lactam/β-lactam inhibitor combinations for the treatment of bacteremia due to extended-spectrum β-lactamase-producing Escherichia coli: a post hoc analysis of prospective cohorts. *Clin Infect Dis* 2012; 54: 167-174 [PMID: 22057701 DOI: 10.1093/cid/cir790]

19 Kang CI, Kim SH, Park WB, Lee KD, Kim HB, Kim EC, Oh MD, Choe KW. Bloodstream infections due to extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae: risk factors for mortality and treatment outcome, with special emphasis on antimicrobial therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 4574-4581 [PMID: 15561828 DOI: 10.1016/j.ijid.2011.09.019]

20 Kuster SP, Hasse B, Huebner V, Bansal V, Zbinden R, Ruef C, Ledergerber B, Weber R. Risks factors for infections with extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae at a tertiary care university hospital in Switzerland. *Infection* 2010; 38: 33-40 [PMID: 20108162 DOI: 10.1007/s15010-009-9207-z]

21 Demir S, Soysal A, Bakir M, Kaufmann ME, Yagci A. Extended-spectrum beta-lactamase-producing Klebsiella pneumoniae in paediatric wards: a nested case-control study. *J Paediatr Child Health* 2008; 44: 548-553 [PMID: 18557808 DOI: 10.1111/j.1440-1754.2008.01326.x]

22 Laurent C, Rodriguez-Villalobos H, Rost F, Strale H, Vincent JL, Deplano A, Struelens MJ, Byl B. Intensive care unit outbreak of extended-spectrum beta-lactamase-producing Klebsiella pneumoniae controlled by cohorting patients and reinforcing infection control measures. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008; 29: 517-524 [PMID: 18510461 DOI: 10.1086/588004]

23 Niumsup PR, Tansawai U, Boonkerd N, Polwichai P, Dejsirilert S. Dissemination of extended-spectrum beta-lactamase-producing Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli in Thai hospitals. *J Infect Chemother* 2008; 14: 404-408 [PMID: 19089552 DOI: 10.1007/s10156-008-0642-z]

24 Nasa P, Juneja D, Singh O, Dang R, Singh A. An observational study on bloodstream extended-spectrum beta-lactamase infection in critical care unit: incidence, risk factors and its impact on outcome.

Eur J Intern Med 2012; 23: 192-195 [PMID: 22284253 DOI: 10.1016/j.ejim.2011.06.016]
25 Filozov A, Visintainer P, Carbonaro C, Aguero-Rosenfeld M, Wormser GP, Montecalvo MA. Epidemiology of an outbreak of antibiotic-resistant Klebsiella pneumoniae at a tertiary care medical center. *Am J Infect Control* 2009; 37: 723-728 [PMID: 19501935 DOI: 10.1016/j.ajic.2009.02.006]
26 Song KH, Jeon JH, Park WB, Park SW, Kim HB, Oh MD, Lee HS, Kim NJ, Choe KW. Clinical outcomes of spontaneous bacterial peritonitis due to extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella species: a retrospective matched case-control study. *BMC Infect Dis* 2009; 9: 41 [PMID: 19361340 DOI: 10.1186/1471-2334-9-41]
27 Pitout JD. Multiresistant Enterobacteriaceae: new threat of an old problem. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2008; 6: 657-669 [PMID: 18847404 DOI: 10.1586/14787210.6.5.657]
28 Jeong HS, Bae IK, Shin JH, Jung HJ, Kim SH, Lee JY, Oh SH, Kim HR, Chang CL, Kho WG, Lee JN. Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance and its association with extended-spectrum beta-lactamase and AmpC beta-lactamase in Enterobacteriaceae. *Korean J Lab Med* 2011; 31: 257-264 [PMID: 22016679 DOI: 10.3343/kjlm.2011.31.4.257]
29 彭敬红, 孙自镛, 周有利, 吕军. 产ESBLs大肠埃希菌的耐药性研究. 现代预防医学 2007; 34: 3668-3669
30 Tandon P, Garcia-Tsao G. Bacterial infections, sepsis, and multiorgan failure in cirrhosis. *Semin Liver Dis* 2008; 28: 26-42 [PMID: 18293275 DOI: 10.1055/s-2008-1040319]
31 Meier S, Weber R, Zbinden R, Ruef C, Hasse B. Extended-spectrum β-lactamase-producing Gram-negative pathogens in community-acquired urinary tract infections: an increasing challenge for antimicrobial therapy. *Infection* 2011; 39: 333-340 [PMID: 21706226 DOI: 10.1007/s15010-011-0132-6]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

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

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873

本刊讯 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布.《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界胃肠病学杂志(英文版)》总被引频次6979次, 影响因子0.873, 综合评价总分88.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第1位、第3位、第1位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第11位、第156位、第18位; 其他指标: 即年指标0.219, 他引率0.89, 引用刊数619种, 扩散因子8.84, 权威因子2144.57, 被引半衰期4.7, 来源文献量758, 文献选出率0.94, 地区分布数26, 机构分布数1, 基金论文比0.45, 海外论文比0.71.

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

世界华人消化杂志 2013年5月8日; 21(13): 1185-1190
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

Th17细胞与肝脏疾病关系的研究进展

薛芝敏, 姚冬梅

薛芝敏, 姚冬梅, 河北医科大学第二医院消化内科 河北省石家庄市 050000
薛芝敏, 硕士, 主要从事消化系疾病的研究.
作者贡献分布: 本文综述由薛芝敏完成; 姚冬梅负责审校.
通讯作者: 姚冬梅, 副教授, 硕士生导师, 050000, 河北省石家庄市新华区和平西路215号, 河北医科大学第二医院消化内科. ydm8080@hotmail.com
电话: 0311-66002951
收稿日期: 2012-11-01 修回日期: 2013-04-06
接受日期: 2013-04-12 在线出版日期: 2013-05-08

Th17 cells and liver diseases

Zhi-Min Xue, Dong-Mei Yao

Zhi-Min Xue, Dong-Mei Yao, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China
Correspondence to: Dong-Mei Yao, Associate Professor, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, 215 Heping West Road, Xinhua District, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China. ydm8080@hotmail.com
Received: 2012-11-01 Revised: 2013-04-06
Accepted: 2013-04-12 Published online: 2013-05-08

Abstract
In recent years, it has been demonstrated that T helper cells 17 (Th17) are closely related to the occurrence and development of many kinds of liver diseases such as viral hepatitis, autoimmune liver diseases and fatty liver diseases. Th17 cells are a new $CD4^+$ T cell subset, which can interact with Th1, Th2 and Treg cells. There exists complex antagonistic or collaborative relationship among these cells. Understanding the role of Th17 cells in liver diseases will help explore the pathogenesis and treatment of these diseases.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Th17; IL-17; Immune response; Liver

Xue ZM, Yao DM. Th17 cells and liver diseases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(13): 1185-1190 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1185.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i13.1185

摘要
近年来研究发现, 辅助性T细胞17(T helper cells 17, Th17)与病毒性肝炎、自身免疫性肝病以及脂肪性肝病等多种肝病的发生发展密切相关. Th17细胞是新发现的$CD4^+$ T细胞亚群, 与调节性T细胞(regulatory T cells, Treg)、Th1细胞及Th2细胞在分化发育上相互制约, 在功能上存在着拮抗或协同的复杂关系, 研究Th17细胞在多种肝病发生发展中的作用有助于进一步探索肝病的发病机制及治疗方法.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: Th17细胞; 白介素17; 免疫反应; 肝脏

核心提示: 辅助性T细胞17(T helper cells 17, Th17)参与了多种肝病的发病过程, 但Th17细胞在乙型肝炎病毒(hepatitis B virus)感染致肝损伤中的作用尚存争议, 循环Th17与丙型肝炎病毒(hepatitis C virus)相关肝纤维化关系尚不明确, Th17在急慢性酒精性肝病发病中的作用机制可能不同.

薛芝敏, 姚冬梅. Th17细胞与肝脏疾病关系的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(13): 1185-1190 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1185.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i13.1185

0 引言
$CD4^+$ T淋巴细胞依据其生物学特性, 可分为调节性T细胞(regulatory T cells, Treg)、辅助性T细胞17(T helper cells 17, Th17)、Th1及Th2细胞4个亚群, Th17细胞是新发现的一类效应性T细胞, 与机体的炎症反应、自身免疫性疾病及肿瘤的发生发展密切相关. 研究表明, Th17细胞参与了病毒性肝炎、自身免疫性肝病及脂肪性肝病等多种肝病的发病过程. 本文将从Th17细胞在肝脏疾病中的作用研究进展作一综述.

1 Th17细胞的分化及调节
$CD4^+$ T淋巴细胞在转化生长因子β(transforming growth factor β, TGF-β)、白细胞介素6(interleukin6, IL-6)的协同作用下分化为Th17细胞, 孤儿核受体γt(Orphan nuclear receptor γt, RORγt)是其关键性的转录因子, IL-21、IL-23、信号转导

■背景资料
近年来, 辅助性T细胞17(T helper cells 17, Th17)与慢性炎症、自身免疫及纤维化等疾病的关系研究越来越多, 其在肝病中的作用引起人们的广泛关注, 明确Th17细胞在病毒感染、自身免疫、酒精及非酒精性肝病发病及进展中的作用, 可为其治疗提供新的研究方向.

■同行评议者
赵青川, 主任医师, 教授, 西京医院消化外科

■研发前沿
Th17细胞参与了多种肝病的发生发展过程, 但其在不同病因肝病中的作用不尽相同, 急性酒精性肝损伤中白介素17的表达及作用机制尚不清楚, Th17细胞介导肝纤维化的具体作用机制尚不明确, Th17与丙型肝炎病毒致肝纤维化的关系尚不明确.

转录激活子3(signal transducer and activator of transcription3, STAT3)及干扰素调节因子4(interferon regulatory factor4, IRF4)促进Th17细胞分化, IL-4、γ干扰素(interferon γ, IFN-γ)、IL-2、IL-12、IL-27、母亲DDP同源物(mothers against decapentaplegic homolog 3, Smad3)及细胞因子信号传送阻抑蛋白3(suppressor of cytokine signaling 3, Socs3)等抑制Th17细胞的生成. Th17细胞分泌主要炎症介质IL-17, 参与炎症反应.

2 Th17细胞与肝病的关系

Th17细胞数量和/或功能的紊乱, 可导致多种免疫介导的肝脏疾病发生, Th17细胞分泌增加可能导致炎症反应加剧、自身免疫性疾病以及暴发性肝炎等, 而分泌减少则可能导致慢性病毒感染和肝癌的发生. 新近研究发现Th17细胞与非酒精性脂肪性肝病和酒精性肝病亦有关. 现分述如下.

2.1 病毒性肝炎 Th17细胞在慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)病程进展中发挥重要作用. 在乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)和丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染时, 病毒诱导的肝脏炎症反应与Th17细胞的浸润和激活以及抗病毒免疫反应所引发的肝损伤关系密切. 国内外多项研究[1-3]发现, 在CHB患者中, 外周血和肝脏的Th17细胞数量及IL-17显著增加, 随肝病严重程度增加IL-17表达增高, 提示Th17细胞在乙型肝炎病毒感染引起的免疫反应中发挥重要作用, 与CHB进展相关[4-7]. 因此, 从抗病毒防御和肝病进展角度来讲, 强烈的Th17反应同病毒负荷增加、血浆转氨酶水平增高以及血单核细胞和肝脏巨噬细胞激活有关, HCV亦引起相似的病理生理学反应[8-11]. HCV患者应用聚乙二醇干扰素联合利巴韦林抗病毒治疗后导致Th17反应下降, 从而减轻HCV介导的肝脏炎症[12], 但亦有少数研究显示CHB患者外周血中Th17细胞频率与健康人群的差异无统计学意义[13], 甚至在急、慢性乙型肝炎患者未检测到病毒特异性IL-17$^+$ T细胞[14], 而慢性HCV感染的患者及动物模型中显示产IL-17的CD8$^+$ T细胞具有肝脏保护功能[15], 肝移植后丙型肝炎复发患者Th17细胞具有清除病毒功能[16]. 对CHB机制研究发现Th17细胞可以通过上调抗凋亡分子, 抑制细胞毒性T淋巴细胞对靶分子的破坏, 从而增加病毒持续感染的时间[17], 同时他可能刺激髓样树突状细胞(myeloid dendritic cells, mDCs)和单核细胞释放炎症细胞因子IL-1β、IL-23、IL-6、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)而介导肝脏免疫反应, 加重肝脏损伤, 进一步对乙型肝炎肝硬化患者研究发现[18,19]IL-17水平与肝纤维化血清学指标例如透明质酸、层黏连蛋白及Ⅲ型胶原等呈正相关, 因此提示IL-17在CHB中可能有促肝纤维化的作用[20-22], 不同的是, 有研究发现, 丙型肝炎患者循环中IL-17水平增高与肝纤维化关系不明显[23].

此外, Th17细胞分化、肝内IL-17$^+$/叉头翼状螺旋转录因子3(forkhead winged helix transcription factor 3, Foxp3)细胞比例增高在慢加急性肝衰竭(acute on chronic liver failure, ACLF)中亦发挥重要作用, 且与预后密切相关[24-27]. 临床研究发现, HBV相关的慢性肝衰竭(HBV-related chronic liver failure, HBV-CLF)、ACLF及正常人群中, ACLF组肝组织汇管区IL-17$^+$ T细胞浸润显著增强, IL-17$^+$/CD4$^+$ T细胞的比率显著高于CLF组及正常对照组, 循环中IL-17$^+$ T细胞的频率随着CLF向ACLF进展而逐渐增加[2], 提示Th17细胞介导的免疫反应与HBV感染的严重程度及肝细胞损伤有关, 血清中IL-17的水平可以作为新的评估急性肝损伤严重程度的标志物.

2.2 Th17细胞与自身免疫性肝病 Th17细胞在自身免疫性肝病中的作用已引起广泛关注, 目前研究主要集中在Th17细胞与原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)和自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)方面[28-30]. 学者们观察到自身免疫性肝病患者血清中Th17相关细胞因子及肝脏IL-17$^+$淋巴细胞浸润明显增加[13,31], 但其作用机制尚不明确. *IL-2Rα*基因敲除小鼠是类似于人PBC的动物模型, 该模型小鼠Th17细胞产生增加, 同时伴随血清中IL-17的明显增加[32], 而且同野生鼠相比, *IL-2Rα*基因敲除小鼠肝脏产生Th17细胞的数量明显增加, 且该细胞产生IL-17的水平亦明显高于野生鼠[13], 此作用可能系由于缺乏IL-2的抑制效应所致, 但Th17细胞在肝脏诱导产生的机制仍不清楚, 进一步需要研究PBC产生是否真正系通过Th17细胞及IL-17水平升高所致[13,33,34]. Harada等[35]通过对人胆管上皮细胞(biliary epithelial cells, BECs)进行培养, 检测Th17相关细胞因子及趋化因子的表达, 并应用病原体相关的分子模式进行治疗观察其表达的变化, 发现BECs存在IL-17受体, 应用IL-17后可诱导IL-6、IL-1β和IL-23p19的产生. 在PBC患者受损胆管周围发现IL-17阳性细胞浸润及

诱导和维持Th17产生的细胞因子IL-6、IL-1β和IL-23的表达增加, 从而诱导IL-17的产生, 他可促进Th17等炎症细胞的移行, 进一步加剧慢性胆管炎, PBC中胆管病变的病理发病机制仍需进一步深入研究[13]. 但Zenewicz等[36]在ConA诱导的小鼠自身免疫性肝炎模型中发现Th17细胞并不起主要作用, 研究发现Th17细胞所分泌的IL-22、IL-17 mRNA在肝脏及脾脏表达增加, 进一步对IL-17缺乏小鼠注射ConA后观察到其引起的肝损伤同野生型小鼠相比无显著差异, 而对IL-22和IL-17同时缺乏小鼠注射ConA后观察到其所引起的肝脏的损伤程度同单独IL-22缺乏小鼠并无显著差异, 表明IL-17在ConA诱导的肝细胞损伤中似乎不发挥主要作用, 而Th17细胞可作为媒介使IL-22在炎症部位聚集从而限制肝脏损伤, 其机制可能与激活丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(serine/threonine protein kinase, AKt)和STAT3有关. 虽然Th17细胞在ConA介导的AIH中不起主要作用, 但多数研究观察到AIH时Th17相关细胞因子明显增加, Oo等[37]观察到在AIH时IL-17$^+$ T细胞浸润增加, 同时趋化因子受体3(chemokine receptor 3, CXCR3)表达升高, 他在人及小鼠肝损伤时均可促进Th17细胞从外周血至肝脏, 继而依赖胆管上皮细胞分泌趋化因子配体20(chemokine ligand 20, CCL20)而聚集于胆道周围. Zhao等[28]对AIH和CHB患者肝脏及外周血Th17细胞数量进行研究发现, 二者Th17细胞数量均明显增加, 但同CHB相比, AIH患者Th17细胞数量增加更为明显, 且Th17细胞数量与肝脏炎症程度及纤维化程度明显相关, 其机制可能与IL-17通过肝细胞诱导有丝分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)依赖的IL-6表达有关, 并可通过Th17细胞与肝细胞的正反馈作用促进炎症过程. 在AIH中, IL-17可诱导肝脏IL-6的表达, IL-6与TGF-β促进RORγt表达进而激活Th17通路. 因此, Th17细胞增殖可能是AIH发病的启动因素[29]. 阻断Th17信号通路干扰IL-17的正反馈环可能为AIH的治疗提供潜在的治疗靶向. 此外, Th17细胞与Tregs之间的平衡失调促进了自身免疫性疾病的发展[34,38]. 新近一项对从AIH患者中提取的CD25-Treg(CD25 negative Treg, CD25ngTreg)细胞进行研究发现, AIH患者IL-17$^+$ ngTreg细胞的比例明显增加, 抑制IL-17后可促进ngTreg的发育从而导致免疫抑制, 对该机制的深入研究可能有助于AIH患者的治疗[39].

2.3 Th17细胞与酒精性肝病 Th17细胞在酒精性肝病(alcoholic liver disease, ALD)中的研究相对较少[40,41], 虽然其机制目前尚未阐明, 但中性粒细胞及T细胞在肝脏的浸润促进了酒精所致的肝损伤. Lemmers等[9]证明Th17通路在酒精性肝病中发挥了重要作用. 酒精中毒性肝损伤患者及酒精性肝硬化患者血浆中IL-17水平明显升高, 他主要位于纤维化肝脏的界板区, 且肝脏IL-17细胞数量同肝细胞损伤程度呈正相关[33,42], 其机制被认为是Th17细胞可通过产生IL-8和生长调节致癌基因α诱导中性粒细胞的聚集[9]. 现有研究认为长期摄入乙醇导致的IL-17的增加可进一步刺激表达IL-17受体的肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC), 进而引起TNF-α和TGF-β表达增加, 进而促进细胞凋亡蛋白酶原3活化介导肝细胞凋亡、抑制自然杀伤细胞的活性而减弱其抗纤维化的作用. 此外, HSC激活亦可促进IL-8等细胞因子分泌, 进而诱导肝脏炎症, 同时, 乙醇可活化纤溶酶原激活抑制物-1发挥抗纤溶作用, 与乙醇代谢产物乙醛的促胶原生成作用协同, 促进肝纤维化的形成. 因此, IL-17可促进酒精性肝病的进展, 阻断IL-17可能是治疗酒精性肝病的有效治疗方案. 与之相反, 有研究表明, 急性酒精摄入可改变树突状细胞的抗原提呈功能, 影响适应性免疫应答, 促进Foxp3生成, 但抑制*RORγt*基因表达, 低水平的IL-23/IL-17可能与肺炎克雷伯杆菌易感相关, IL-17可能发挥保护作用, 急性酒精性肝损伤中IL-17的表达及作用尚不清楚[43-45].

2.4 Th17细胞与非酒精性脂肪性肝病 目前研究证实脂质代谢、胰岛素抵抗及瘦素水平等多种因素参与了非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)的形成. 虽然非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)的免疫病理机制尚未阐明, 但多项研究表明炎症反应同肝损伤关系密切. 脂肪肝相关的炎症反应系通过两个主要受体CXCR1或CXCR2介导从而增强中性粒细胞和淋巴细胞的聚集[46,47]. 汤艳丽等[48]研究发现, NAFLD的关键因子瘦素可促进小鼠IL-17的产生, 进而促进肝细胞IL-26的产生从而加重肝细胞脂肪变性. 同时, IL-17和脂肪酸可协同促进IL-6的分泌. IL-6通过抑制胰岛素受体底物-1酪氨酸磷酸化, 发挥胰岛素抵抗作用, IL-17加重了炎性损伤, 促进了NAFLD的形成. 总之, NASH时中性粒细胞浸润、IL-6信号通路、Th17的应答均表明脂肪肝

■相关报道
Lemmers等提出Th17细胞与酒精性肝病的炎症浸润及纤维化进展密切相关, 为酒精性肝病的治疗提供了新的靶点.

■应用要点
本文总结了目前肝病研究中Th17细胞的重要作用，指出了尚存争议及未阐明的问题，为进一步深入研究肝病发病机制提供了方向. Th17细胞不同病因肝病发病机制中的作用不尽相同，为治疗研究提供了新的依据.

诱导的炎症反应同Th17免疫反应关系密切[49-51].

3 结论

Th17细胞通过分泌多种炎性因子介导机体免疫防御反应, Treg/Th17细胞失衡导致炎症反应过度, 与多种自身免疫性疾病发生有关. 调节Th17细胞的分化、Treg/Th17细胞的平衡对炎症性疾病、自身免疫性疾病以及肿瘤等的治疗具有重大意义. 目前, 尚有诸多问题等待我们去研究, 对Th17细胞与慢性肝病的研究必将有利于我们进一步阐明慢性肝病的免疫学发病机制, 为其免疫治疗提供靶点和治疗策略, 因此具有非常重要的意义.

4 参考文献

1 Ge J, Wang K, Meng QH, Qi ZX, Meng FL, Fan YC. Implication of Th17 and Th1 cells in patients with chronic active hepatitis B. *J Clin Immunol* 2010; 30: 60-67 [PMID: 19756987 DOI: 10.1007/s10875-009-9328-2]

2 Zhang JY, Zhang Z, Lin F, Zou ZS, Xu RN, Jin L, Fu JL, Shi F, Shi M, Wang HF, Wang FS. Interleukin-17-producing CD4(+) T cells increase with severity of liver damage in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 2010; 51: 81-91 [PMID: 19842207 DOI: 10.1002/hep.23273]

3 Wu W, Li J, Chen F, Zhu H, Peng G, Chen Z. Circulating Th17 cells frequency is associated with the disease progression in HBV infected patients. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 750-757 [PMID: 20492330 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2009.06154.x]

4 Zhang F, Yao S, Yuan J, Zhang M, He Q, Yang G, Gao Z, Liu H, Chen X, Zhou B. Elevated IL-6 receptor expression on CD4+ T cells contributes to the increased Th17 responses in patients with chronic hepatitis B. *Virol J* 2011; 8: 270 [PMID: 21639870 DOI: 10.1186/1743-422X-8-270]

5 Huang Z, van Velkinburgh JC, Ni B, Wu Y. Pivotal roles of the interleukin-23/T helper 17 cell axis in hepatitis B. *Liver Int* 2012; 32: 894-901 [PMID: 22340646 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2012.02764.x]

6 Ye Y, Xie X, Yu J, Zhou L, Xie H, Jiang G, Yu X, Zhang W, Wu J, Zheng S. Involvement of Th17 and Th1 effector responses in patients with Hepatitis B. *J Clin Immunol* 2010; 30: 546-555 [PMID: 20393789 DOI: 10.1007/s10875-010-9416-3]

7 Wang Q, Zheng Y, Huang Z, Tian Y, Zhou J, Mao Q, Wu Y, Ni B. Activated IL-23/IL-17 pathway closely correlates with increased Foxp3 expression in livers of chronic hepatitis B patients. *BMC Immunol* 2011; 12: 25 [PMID: 21489307 DOI: 10.1186/1471-2172-12-25]

8 Puel A, Döffinger R, Natividad A, Chrabieh M, Barcenas-Morales G, Picard C, Cobat A, Ouachée-Chardin M, Toulon A, Bustamante J, Al-Muhsen S, Al-Owain M, Arkwright PD, Costigan C, McConnell V, Cant AJ, Abinun M, Polak M, Bougnères PF, Kumararatne D, Marodi L, Nahum A, Roifman C, Blanche S, Fischer A, Bodemer C, Abel L, Lilic D, Casanova JL. Autoantibodies against IL-17A, IL-17F, and IL-22 in patients with chronic mucocutaneous candidiasis and autoimmune polyendocrine syndrome type I. *J Exp Med* 2010; 207: 291-297 [PMID: 20123958 DOI: 10.1084/jem.20091983]

9 Lemmers A, Moreno C, Gustot T, Maréchal R, Degré D, Demetter P, de Nadai P, Geerts A, Quertinmont E, Vercruysse V, Le Moine O, Devière J. The interleukin-17 pathway is involved in human alcoholic liver disease. *Hepatology* 2009; 49: 646-657 [PMID: 19177575 DOI: 10.1002/hep.22680]

10 Rowan AG, Fletcher JM, Ryan EJ, Moran B, Hegarty JE, O'Farrelly C, Mills KH. Hepatitis C virus-specific Th17 cells are suppressed by virus-induced TGF-beta. *J Immunol* 2008; 181: 4485-4494 [PMID: 18802051]

11 Chang Q, Wang YK, Zhao Q, Wang CZ, Hu YZ, Wu BY. Th17 cells are increased with severity of liver inflammation in patients with chronic hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27: 273-278 [PMID: 21592230 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06782.x]

12 Jimenez-Sousa MA, Almansa R, de la Fuente C, Caro-Paton A, Ruiz L, Sanchez-Antolín G, Gonzalez JM, Aller R, Alcaide N, Largo P, Resino S, de Lejarazu RO, Bermejo-Martin JF. Increased Th1, Th17 and pro-fibrotic responses in hepatitis C-infected patients are down-regulated after 12 weeks of treatment with pegylated interferon plus ribavirin. *Eur Cytokine Netw* 2010; 21: 84-91 [PMID: 20483710 DOI: 10.1684/ecn.2010.0191]

13 Lan RY, Salunga TL, Tsuneyama K, Lian ZX, Yang GX, Hsu W, Moritoki Y, Ansari AA, Kemper C, Price J, Atkinson JP, Coppel RL, Gershwin ME. Hepatic IL-17 responses in human and murine primary biliary cirrhosis. *J Autoimmun* 2009; 32: 43-51 [PMID: 19101114 DOI: 10.1016/j.jaut.2008.11.001]

14 Gehring AJ, Koh S, Chia A, Paramasivam K, Chew VS, Ho ZZ, Lee KH, Maini MK, Madhavan K, Lim SG, Bertoletti A. Licensing virus-specific T cells to secrete the neutrophil attracting chemokine CXCL-8 during hepatitis B virus infection. *PLoS One* 2011; 6: e23330 [PMID: 21876747 DOI: 10.1371/journal.pone.0023330]

15 Grafmueller S, Billerbeck E, Blum HE, Neumann-Haefelin C, Thimme R. Differential antigen specificity of hepatitis C virus-specific interleukin 17- and interferon γ-producing CD8(+) T cells during chronic infection. *J Infect Dis* 2012; 205: 1142-1146 [PMID: 22351943 DOI: 10.1093/infdis/jis018]

16 Seetharam AB, Borg BB, Subramanian V, Chapman WC, Crippin JS, Mohanakumar T. Temporal association between increased virus-specific Th17 response and spontaneous recovery from recurrent hepatitis C in a liver transplant recipient. *Transplantation* 2011; 92: 1364-1370 [PMID: 22082818 DOI: 10.1097/TP.0b013e31823817f5]

17 Hou W, Kang HS, Kim BS. Th17 cells enhance viral persistence and inhibit T cell cytotoxicity in a model of chronic virus infection. *J Exp Med* 2009; 206: 313-328 [PMID: 19204109 DOI: 10.1084/jem.20082030.]

18 Xu Y, DU WJ, Qin LY, Xing ZZ, Qin XH, Chen SJ. [Expression of interleukin-17 in hepatitis B related liver fibrosis]. *Xibao Yu Fenzi Mianyixue Zazhi* 2009; 25: 133-135 [PMID: 19174010]

19 秦来英, 杜文军, 刘葵花, 王灿, 陈士俊. 白细胞介素17的肝内表达与慢性乙型肝炎肝纤维化的相关性. 中华肝脏病杂志 2009; 17: 221-222

20 Du WJ, Zhen JH, Zeng ZQ, Zheng ZM, Xu Y, Qin

LY, Chen SJ. Expression of Interleukin-17 associated with disease progression and liver fibrosis with hepatitis B virus infection: IL-17 in HBV infection. *Diagn Pathol* 2013; 8: 40 [PMID: 23448394 DOI: 10.1186/1746-1596-8-40]
21 Li J, Qiu SJ, She WM, Wang FP, Gao H, Li L, Tu CT, Wang JY, Shen XZ, Jiang W. Significance of the balance between regulatory T (Treg) and T helper 17 (Th17) cells during hepatitis B virus related liver fibrosis. *PLoS One* 2012; 7: e39307 [PMID: 22745730 DOI: 10.1371/journal.pone.0039307]
22 Wang L, Chen S, Xu K. IL-17 expression is correlated with hepatitis B related liver diseases and fibrosis. *Int J Mol Med* 2011; 27: 385-392 [PMID: 21225222 DOI: 10.3892/ijmm.2011.594]
23 Foster RG, Golden-Mason L, Rutebemberwa A, Rosen HR. Interleukin (IL)-17/IL-22-producing T cells enriched within the liver of patients with chronic hepatitis C viral (HCV) infection. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 381-389 [PMID: 22183819 DOI: 10.1007/s10620-011-1997-z]
24 Qi ZX, Wang LY, Fan YC, Zhang JJ, Li T, Wang K. Increased peripheral RORα and RORγt mRNA expression is associated with acute-on-chronic hepatitis B liver failure. *J Viral Hepat* 2012; 19: 811-822 [PMID: 23043388 DOI: 10.1111/j.1365-2893.2012.01603.x]
25 Wang LY, Meng QH, Zou ZQ, Fan YC, Han J, Qi ZX, Ge J, Xu AL, Wang SK, Wang K. Increased frequency of circulating Th17 cells in acute-on-chronic hepatitis B liver failure. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 667-674 [PMID: 21984439 DOI: 10.1007/s10620-011-1930-5]
26 Niu Y, Liu H, Yin D, Yi R, Chen T, Xue H, Zhang S, Lin S, Zhao Y. The balance between intrahepatic IL-17(+) T cells and Foxp3(+) regulatory T cells plays an important role in HBV-related end-stage liver disease. *BMC Immunol* 2011; 12: 47 [PMID: 21851644 DOI: 10.1186/1471-2172-12-47]
27 Yang B, Wang Y, Zhao C, Yan W, Che H, Shen C, Zhao M. Increased Th17 cells and interleukin-17 contribute to immune activation and disease aggravation in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Immunol Lett* 2013; 149: 41-49 [PMID: 23237940 DOI: 10.1016/j.imlet.2012.12.001]
28 Zhao L, Tang Y, You Z, Wang Q, Liang S, Han X, Qiu D, Wei J, Liu Y, Shen L, Chen X, Peng Y, Li Z, Ma X. Interleukin-17 contributes to the pathogenesis of autoimmune hepatitis through inducing hepatic interleukin-6 expression. *PLoS One* 2011; 6: e18909 [PMID: 21526159 DOI: 10.1371/journal.pone.0018909]
29 Yu H, Huang J, Liu Y, Ai G, Yan W, Wang X, Ning Q. IL-17 contributes to autoimmune hepatitis. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2010; 30: 443-446 [PMID: 20714867 DOI: 10.1007/s11596-010-0446-0]
30 Chen Y, Deng RH, Zhou D, Sun J, Huang Y, Zeng X, Chen QB. [Peripheral blood Th17 cell and serum IL-17A in primary biliary cirrhosis]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2010; 18: 379-380 [PMID: 20510006 DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2010.05.016]
31 Yasumi Y, Takikawa Y, Endo R, Suzuki K. Interleukin-17 as a new marker of severity of acute hepatic injury. *Hepatol Res* 2007; 37: 248-254 [PMID: 17397512]
32 Laurence A, Tato CM, Davidson TS, Kanno Y, Chen Z, Yao Z, Blank RB, Meylan F, Siegel R, Hennighausen L, Shevach EM, O'shea JJ. Interleukin-2 signaling via STAT5 constrains T helper 17 cell generation. *Immunity* 2007; 26: 371-381 [PMID: 17363300]
33 Hammerich L, Heymann F, Tacke F. Role of IL-17 and Th17 cells in liver diseases. *Clin Dev Immunol* 2011; 2011: 345803 [PMID: 21197451 DOI: 10.1155/2011/345803]
34 Rong G, Zhou Y, Xiong Y, Zhou L, Geng H, Jiang T, Zhu Y, Lu H, Zhang S, Wang P, Zhang B, Zhong R. Imbalance between T helper type 17 and T regulatory cells in patients with primary biliary cirrhosis: the serum cytokine profile and peripheral cell population. *Clin Exp Immunol* 2009; 156: 217-225 [PMID: 19302244 DOI: 10.1111/j.1365-2249.2009.03898.x]
35 Harada K, Shimoda S, Sato Y, Isse K, Ikeda H, Nakanuma Y. Periductal interleukin-17 production in association with biliary innate immunity contributes to the pathogenesis of cholangiopathy in primary biliary cirrhosis. *Clin Exp Immunol* 2009; 157: 261-270 [PMID: 19604266 DOI: 10.1111/j.1365-2249.2009.03947.x]
36 Zenewicz LA, Yancopoulos GD, Valenzuela DM, Murphy AJ, Karow M, Flavell RA. Interleukin-22 but not interleukin-17 provides protection to hepatocytes during acute liver inflammation. *Immunity* 2007; 27: 647-659 [PMID: 17919941]
37 Oo YH, Banz V, Kavanagh D, Liaskou E, Withers DR, Humphreys E, Reynolds GM, Lee-Turner L, Kalia N, Hubscher SG, Klenerman P, Eksteen B, Adams DH. CXCR3-dependent recruitment and CCR6-mediated positioning of Th-17 cells in the inflamed liver. *J Hepatol* 2012; 57: 1044-1051 [PMID: 22796894 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.07.008]
38 Zhao L, Qiu de K, Ma X. Th17 cells: the emerging reciprocal partner of regulatory T cells in the liver. *J Dig Dis* 2010; 11: 126-133 [PMID: 20579216 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2010.00428.x]
39 Longhi MS, Liberal R, Holder B, Robson SC, Ma Y, Mieli-Vergani G, Vergani D. Inhibition of interleukin-17 promotes differentiation of CD25+ cells into stable T regulatory cells in patients with autoimmune hepatitis. *Gastroenterology* 2012; 142: 1526-1535.e6 [PMID: 22387392 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.02.041]
40 Albano E, Vidali M. Immune mechanisms in alcoholic liver disease. Genes Nutr 2010; 5: 141-147 [PMID: 19809845 DOI: 10.1007/s12263-009-0151-4]
41 Emanuele E, Bertona M. Interleukin-17-targeted treatment of alcoholic liver disease. *Hepatology* 2009; 50: 329-330 [PMID: 19437540 DOI: 10.1002/hep.22901]
42 Lafdil F, Miller AM, Ki SH, Gao B. Th17 cells and their associated cytokines in liver diseases. *Cell Mol Immunol* 2010; 7: 250-254 [PMID: 20305686 DOI: 10.1038/cmi.2010.5]
43 Heinz R, Waltenbaugh C. Ethanol consumption modifies dendritic cell antigen presentation in mice. *Alcohol Clin Exp Res* 2007; 31: 1759-1771 [PMID: 17850646]
44 Karavitis J, Murdoch EL, Gomez CR, Ramirez L, Kovacs EJ. Acute ethanol exposure attenuates pattern recognition receptor activated macrophage functions. *J Interferon Cytokine Res* 2008; 28: 413-422 [PMID: 18597620 DOI: 10.1089/jir.2007.0111]
45 von Haefen C, Mei W, Menk M, Klemz R, Jones A, Wernecke KD, Spies CD. Ethanol changes gene expression of transcription factors and cytokine production of CD4+ T-cell subsets in PBMCs stimulated with LPS. *Alcohol Clin Exp Res* 2011; 35: 621-631 [PMID: 21143255 DOI: 10.1111/j.1530-0277.2010.01376.x]

■同行评价

Th17细胞与Treg在分化及功能上相互制约, 在病毒性肝炎、自身免疫性肝病、脂肪性肝病的发生发展中发挥重要作用, 了解Th17细胞在多种肝病发生发展中的作用有助于进一步探索肝病的发病机制及治疗方法.

46 Hübscher SG. Histological assessment of non-alcoholic fatty liver disease. *Histopathology* 2006; 49: 450-465 [PMID: 17064291]
47 Wanless IR, Shiota K. The pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis and other fatty liver diseases: a four-step model including the role of lipid release and hepatic venular obstruction in the progression to cirrhosis. *Semin Liver Dis* 2004; 24: 99-106 [PMID: 15085490]
48 汤艳丽, 邱德凯, 马雄. Th17细胞与肝细胞脂肪变性的相互作用初探. 肝脏 2010; 15: 105-108
49 Ouyang W, Kolls JK, Zheng Y. The biological functions of T helper 17 cell effector cytokines in inflammation. *Immunity* 2008; 28: 454-467 [PMID: 18400188 DOI: 10.1016/j.immuni.2008.03.004]
50 Dong C. Regulation and pro-inflammatory function of interleukin-17 family cytokines. *Immunol Rev* 2008; 226: 80-86 [PMID: 19161417 DOI: 10.1111/j.1600-065X.2008.00709.x]
51 Tang Y, Bian Z, Zhao L, Liu Y, Liang S, Wang Q, Han X, Peng Y, Chen X, Shen L, Qiu D, Li Z, Ma X. Interleukin-17 exacerbates hepatic steatosis and inflammation in non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Exp Immunol* 2011; 166: 281-290 [PMID: 21985374 DOI: 10.1111/j.1365-2249.2011.04471.x]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版)

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

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

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2013年5月8日; 21(13): 1191-1196
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

VEGF与肝脏疾病的关系

阮四军, 邬林泉, 周 凡

阮四军, 邬林泉, 周凡, 南昌大学第二附属医院 江西省南昌市 330006
阮四军, 主要从事肝胆胰脾疾病的研究.
作者贡献分布: 本文综述由阮四军完成; 周凡指导; 邬林泉审校.
通讯作者: 邬林泉, 教授, 主任医师, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 江西省南昌大学第二附属医院肝胆外科.
liubonc@hotmail.com
收稿日期: 2013-02-24 修回日期: 2013-03-26
接受日期: 2013-04-12 在线出版日期: 2013-05-08

Relationship between vascular endothelial growth factors and liver diseases

Si-Jun Ruan, Lin-Quan Wu, Fan Zhou

Si-Jun Ruan, Lin-Quan Wu, Fan Zhou, Department of Hepatobiliary Surgery, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China
Correspondence to: Lin-Quan Wu, Professor, Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, 1 Minde Road, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China
Received: 2013-02-24 Revised: 2013-03-26
Accepted: 2013-04-12 Published online: 2013-05-08

Abstract
Vascular endothelial growth factors play an important role in the processes of cell differentiation and maturation. As a kind of multi-functional factor, they are closely related to the occurrence and progression of liver diseases. They can not only promote postoperative liver regeneration but also repress the propagation of chronic hepatitis B and liver cirrhosis. In addition, they have a role in cancer diagnosis and treatment and graft rejection in liver transplantation. In this paper, we will give a brief introduction of vascular growth factors and their role in liver regeneration, cirrhosis, liver cancer and liver transplantation.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Vascular endothelial growth factors; Liver regeneration; Liver cirrhosis; Liver neoplasms; Liver transplantation

Ruan SJ, Wu LQ, Zhou F. Relationship between vascular endothelial growth factors and liver diseases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(13): 1191-1196 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1191.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i13.1191

摘要
血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF), 作为一种多功能因子, 在组织细胞分化成熟的过程中, 发挥着很大的作用. 不论是在术后促进肝细胞再生, 还是抑制慢性乙型肝炎、肝硬化的发展、肿瘤的诊断与治疗、肝脏移植的排斥反应等方面, VEGF通过与各自组织细胞之间的相互作用, 与肝脏疾病的发生、进展和结局密切相关. 本文就以肝脏为对象, 简要介绍血管内皮生长因子及其在肝脏的再生、硬化、肿瘤及移植等方面的进展情况.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 血管内皮生长因子; 肝再生; 肝硬化; 肝肿瘤; 肝移植

核心提示: 不论是在术后促进肝细胞再生, 还是抑制慢性乙型肝炎、肝硬化的发展、肿瘤的诊断与治疗、肝脏移植的排斥反应等方面, 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor)通过与各自组织细胞之间的相互作用, 与肝脏疾病的发生、发展和结局密切相关.

阮四军, 邬林泉, 周凡. VEGF与肝脏疾病的关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(13): 1191-1196 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1191.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i13.1191

0 引言
血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)又称为血管渗透因子(vascular permeability factor, VPF), 最初是从牛的垂体滤泡星状细胞的条件培养基中纯化出来的, 随后在鼠垂体前叶源性肿瘤细胞系AtT20、人单核细胞、鼠神经胶质瘤细胞系也纯化出了VEGF[1]. 在人类, VEGF包括主要5种类型, 分别

■背景资料
随着诊断治疗水平的进步, 肝切除的适应证和能够切除的范围不断扩大, 过去认为不能切除的巨大肝癌可以安全的切除, 这导致扩大性肝切除术在临床上的应用逐年增加. 如何提高肝脏术后的抗损伤修复能力, 一直是我们关注的重点.

■同行评议者
郭俊明, 教授, 宁波大学医学院生物化学与分子生物学研究所; 周南进, 研究员, 江西省医学科学研究所

■应用要点
本文阐述血管因子多功能作用及与疾病的基本关系, 引发人们对疾病认识的进一步思考. 在组织细胞生长发育, 变性坏死方面意义重大.

为VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D和placental growth factor(PGF). 其中, VEGF-A为刺激血管生成最有效的类型, 至少存在6个亚型, 各自对应着不同亲和力的受体, 起着不同功能作用[2]. 在正常细胞中也存在, 但其表达的数量是相当小的, 一般不参与新生血管合成, 仅维持正常的血管密度和通透性. 只有在生理需要或病理情况下才出现其过度表达, 促使血管生成作用急剧增加[3]. 目前, 综合资料显示, VEGF虽然研究比较多, 但是在肝脏基础研究与临床衔接方面的综合性还是较少的, 本文就VEGF与肝脏疾病的关系做一综述.

1 血管内皮生长因子与肝再生

1.1 肝再生的机制 肝再生过程虽然早就被Higgins和Anderson[4]描述过, 但是关于肝脏再生能力的分子及细胞研究机制还不是很透彻. 肝部分切除后, 在起步阶段, 剩余成熟细胞通过旁分泌, 自分泌, 补体C3a, C5a激活巨噬细胞, 细菌内毒素, 分泌肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α), 白介素6(interleukin-6, IL-6)等细胞因子, 激活JAK/STAT和MAPK通路启动肝细胞的再生[5]. 肝细胞快速由静止状态G_0期开始肝细胞的再生, 一直持续到原肝质量的基本恢复.

肝窦内皮细胞(liver sinusoidal endothelial cells, LSECs)的活化与肝脏再生密切相关. Ding等和Wang等[6,7]的研究表明, LSEC具有一种特殊$VEGFR2^+$ $VEGFR3^+$ $CD34\_VE\_cadherin^+$ FactorⅧ + CD4表型, 在激活启动肝细胞再生过程中具有重要作用. 肝脏切除后, 在LSECs细胞的诱导下, VEGFR2激活, 启动Id1上调及HGF, Wnt2细胞外因子的释放并直接与肝窦内皮细胞、肝细胞联系. 随后, 通过VEGFR2-Id1途经, 毛细血管血管出芽增生, 用来保障肝脏不断增长所需的营养血液供养.

对于肝细胞及肝窦内皮细胞的再生, 适当的条件也是重要的. 当切除大鼠70%到90%的肝脏术后, 如果通路被ERK/MEK阻滞剂阻断, 会导致肝脏再生速度下降[8]. 若肝切除术后突然出现大量再生反应, 则会使肝窦细胞窒息, 肝实质细胞大量沉积, 导致肝细胞及肝窦内皮细胞缺血缺氧, 引起肝功能损害.

1.2 肝再生的调节 (1)来源于脾、小肠的肝再生因子对肝实质细胞再生可能产生积极影响[9,10]. Yamamoto等[9]通过建立70%肝部分切除模型, 分别检测血液中VEGF蛋白、HIF-1a、肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)、HGFA mRNA及在脾脏、小肠、门静脉的表达水平, 结果显示: 术后VEGF mRNA、HIF-1a、HGF和HGFA mRNA的表达明显上升; (2)血小板能促进LSECs的增殖并诱导IL-6及VEGF的产生, 而LSECs又能产生HGF、IL-6、NO等生长因子和细胞因子, 当这些因子激活细胞膜上各自的受体, 转录因子和信号转导通路后, 肝脏产生有丝分裂反应, 肝细胞增殖. 其中Kupffer细胞, 肝星状细胞等均参与肝细胞的再生过程[11,12]; (3)NO在调节VEGF的表达方面发挥着重要作用. 当阻滞NO合成时, VEGF蛋白的表达下降, 且具有与VEGF协调调节肝窦内皮细胞分裂增殖的作用[13,14].

1.3 肝细胞替代治疗 基于肝脏再生的特点, 有些学者曾设想将肝细胞替代治疗来取代原位肝移植, 但目前, 这种技术治疗在治疗急性肝功能衰竭的疗效方面, 效果还不确定. 据研究, 要确切提高治疗效果, 联合使用肝内皮细胞、内皮干细胞和模拟支架, 应用肝实质细胞嫁接到脱细胞肝支架中, 再放入功能完好的内皮细胞, 比直接移植更有效[15]. 显然, 血管生长因子对肝窦内皮细胞分裂的促进作用是不可或缺的.

在处理肝脏外伤及其他肝脏手术中, 我们经常因为无法修补或不能彻底止血而必须采用肝脏部分切除术. 因此, 不管是术后, 外伤, 还是急慢性炎症, 中毒性损伤等, 对肝细胞再生的深入研究, 均具有重大的意义.

2 血管内皮生长因子与肝硬化

2.1 肝硬化形成的血管机制 肝硬化形成的分子机制目前尚未彻底阐明. 一方面, 肝硬化是一系列生长因子, 细胞因子及金属蛋白酶等在组织慢性修复中过表达的结果, 尤以血小板源性生长因子(platelet derived growth factor, PDGF), 转化生长因子-β1(transforming growth factor-β1, TGF-β1), 纤维母细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF), VEGF对肝脏纤维化及血管生成的影响大[16,17]. 在病理上, 主要表现为肝细胞的变性坏死, 慢性炎细胞的浸润, 纤维结缔组织的增生及肝细胞的结节状再生. 此外, integrins、β-catenin、ephrins及其他黏附分子, 细胞外基质也参与此过程[18]; 另一方面, 在持续的炎症反应中, 组织逐渐发生纤维化, 血管阻力增加, 对血液灌注产生影响, 降低组织间氧含量, 进而刺激VEGF的表达, 促进肝窦内皮细胞的有丝分裂,

细胞基质增加和新生血管生成. 随着肝硬化的进展, 肝细胞破坏, 纤维化加重, 血液灌注得不到有效缓解, HIF-1α再次被迅速活化, 进一步诱导下游靶基因VEGF、PGDF-J3、血管紧张素-Ⅱ表达, VEGF通过与其受体VEGF-R2结合, 再通过蛋白激酶C途径激活细胞外信号调节激酶通路, 从而促进内皮细胞增殖, 使肝纤维化进一步加重[19,20].

然而, 也有人认为肝内血管增生与纤维化之间的变化关系, 能为治疗肝硬化提供新的方法, 肝内血管增生和肝窦重建可作为慢性肝脏疾病门脉高压新的治疗靶标[21]. 这可能与VEGF表达降低, 内脏和肝内炎症渗透减少, 肝星状细胞激活的减少密切相关.

2.2 血管内皮生长因子与门脉高压关系 数据显示门体静脉侧枝循环的建立及高压状态跟VEGF有较大关联. 在大鼠肝硬化模型中, 门静脉结扎后, VEGF、VEGFR-2、FLK-1及CD31的表达都不断增加. 同样, 在四氯化碳诱导的模型中, 在缺氧条件下, 肝细胞内脏血管不断生成, 同时伴有VEGF、angiopoietin-1、angiopoietin-2及PGF的过表达[22].

2.3 肝硬化的治疗 根据肝硬化的发病机制, 很多分子靶向治疗方法正在研究之中. (1)主要针对纤维化发生及纤维化溶解方面的研究. 如金属蛋白酶组织抑制因子anti-TIMP-1, 抗血小板衍生生长因子anti-PDGF-b受体等阻断抑制性抗体; (2)对肝内起关键作用的细胞, 针对性地使用靶向药物, 如肝星状细胞, 通过维生素A的修饰后的脂质体等. 已有实验证明抗血管生成因子治疗, 如索拉菲尼、舒尼替尼能改善门体侧枝循环, 内脏血管机械力, 降低门静脉压力等. 其中血管紧张素-2、VEGF-A受体阻断剂及拉格唑拉等, 在抗纤维化动物模型, 及临床试验中, 证明有着很好的运用前景[23-26]; (3)针对并发症的研究治疗, 如Sakamoto等和Kaur等[27,28]将内皮祖细胞注射到肝硬化老鼠的静脉后, 不管是在门静脉压力的变化还是微循环的改变, 都得到了很大的改善. 干细胞的治疗, 将来不失为一种有效治疗肝硬化门脉高压的手段[29].

3 血管内皮生长因子与肝癌关系

3.1 血管内皮生长因子与肿瘤的关系 原发性肝癌是肝脏的一种主要恶性肿瘤, 在肿瘤的进展, 侵袭及转移过程中, 对血管依赖性很强. 肝癌细胞的快速生长需要一个高营养的环境支持供应. 而高度血管化则能适应肿瘤生长的需要. 这与血管生成表型的转换与血管生成正反方面的调节紊乱有关. 在肿瘤进展过程中, 当肿瘤逐渐缺血缺氧时, 肿瘤细胞分泌大量的促血管生成因子, 如VEGF、PDGF、PlGF及TGF-β1, 而内源性生表达抑制剂如TSP-1、endostatin和angiostatin的表达则下调, 激活内皮祖细胞干细胞从骨髓释放, 促进细胞外间隙和基底膜重建形成新的血管. 然而, 这些新生血管的功能结构并不完善, 时有渗出, 出血等, 并导致血流的方向混乱. 由于结构功能并不完善, 也为肿瘤细胞进入血液循环提供了一个通道, 因此极易转移[30].

VEGF的表达水平与血管的侵袭及转移, 复发, 血管密度, 分化, 肿瘤的分期和预后等息息相关[31-34]. Zhong等[35]通过原发性肝癌术前术后血液及组织标本, 采用ELISA及免疫组织化学方法测定VEGF的表达量, 结果得出血液中的表达量明显高于正常组. 复发组明显高于未复发组. 在细胞质中, 复发组明显高于未复发组. 1, 2, 3年生存率明显VEGF(-)比VEGF(+)高.

目前, 肝脏肿瘤诊断运用比较多的是甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP), 为进一步研究评价AFP阴性肝癌患者治疗后的复发风险, Hu等[36]收集了162例肝癌AFP阴性患者标本, 通过统计VEGF和PDGF在各组中表达的分析, 联合2项指标能够分别提高术后等治疗的复发率及生存时间的估计. 实践证明, 血清VEGF水平明显高于健康人,有腹水转移者VEGF表达水平明显高于无腹水转移者. Jia等[37]通过原发性肝癌患者血液术前术后HIF-1α和VEGF对比及相关性研究. 结果显示2因子高度相关, 数据显示两者血液量可能与门静脉血栓及转移成正相关性. 另外, HCC患者VEGF水平明显高于慢性肝炎和肝硬化患者, 也说明VEGF与肝癌早期血管增生密切相关.

可见VEGF水平有助于肝癌的诊断和转移监测, 与AFP联检可提高肝癌检出的阳性率. 不仅可作为监测肿瘤转移的重要指标[38], 而且可以作为术后及生物治疗疗效和预后判断提供依据[39,40]. 临床上我们可以通过测定血清中VEGF浓度来了解肝细胞损伤程度及再生能力, 为判断肝硬化, 肝癌患者的病情和预后提供参考.

3.2 肿瘤的治疗 通过VEGF与肿瘤之间复杂关系的了解, 我们发现: VEGF高表达是肝癌的一个共性, 直接导致肿瘤血管增生和较差的预后. 针对肿瘤血管生成, 抗血管生长因子及通路阻断

■同行评价

血管内皮生长因子在多领域都有研究及应用, 本文就其在肝再生、肝硬化、肝癌、移植等近期研究进行了综述, 为临床及相关研究者提供了有价值的信息.

剂的研究应用, 目前在临床上已取得不错的效果. 如索拉菲尼、贝伐单抗等多酶抑制剂, 能够显著地提高肿瘤患者的生存质量预后[41-44], 另外, Chan等[45]通过抑制(HIF-1α)表达试验, 也证明了下调VEGF蛋白能减少肿瘤的血管生成和生长, 提高患者生存率.

4 血管内皮生长因子与肝移植的关系

组织器官移植的成功与否, 后期疗效好坏, 并发症的发生. 主要决定性因素还在于排斥反应的强弱及免疫耐受的产生. 目前, 有关VEGF在同种异体移植免疫反应的研究不多. 肝移植术后急性排斥反应的发生主要是由于同种异体抗原识别捐赠者的淋巴细胞, 导致T淋巴细胞激活, 增值和分化, 引发一系列的免疫反应, 最终破坏移植肝脏. Aharinejad等[46]注意到, 在人体心脏移植反应中, VEGF与器官移植的急慢性排斥反应相关联. Berberat等[47]发现在自体移植术中, VEGF对于白细胞的运输有着重要作用; 当使用anti-VEGF则能有效地阻止急性排斥反应的进程, 但是并不能防止人体T淋巴细胞的激活, 只能阻止内皮细胞黏附分子及细胞因子如IP-10的表达.

通过对炎症介质的研究, 也发现VEGF在移植反应中发挥着重要作用. 如移植脂肪组织来源的干细胞后, 能减少肝细胞的损伤, 特别是肝窦内皮细胞凋亡, 能保护小体积移植肝脏的微环境不受干扰, 易于肝实质及内皮细胞的再生, 提高患者的生存率[48,49]. 包括介导IP-10, 单核细胞趋化因子MCP-1、IL-8、E-selectin、ICAM-1、VCAM-1在体内体外的表达, 所有这些分子都与急性排斥反应有关. 大鼠实验证明, 当阻断这些分子或者他们各自的配体后, 能延长移植的生存率[48]. 在减轻移植急性排斥反应中, VEGF可能成为一种靶向干扰治疗的方法[3]. 近年来发现, 肥胖, 高脂血症, 脂肪肝的发生也与VEGF有着密切的联系[50].

5 结论

VEGF在肝硬化、肝癌、移植等方面已有了较多研究进展及应用. 有理由相信, 随着VEGF在人体中作用机制的深入研究, 正确利用有利因素, 避其不利, 不论在术后促进肝脏再生, 还是抑制慢性乙型肝炎、肝硬化、肝癌的发展, 肿瘤的诊断和治疗, 肝脏移植的排斥反应等方面将提供多种全方位性、崭新的治疗方案.

6 参考文献

1 Plouët J, Moro F, Bertagnolli S, Coldeboeuf N, Mazarguil H, Clamens S, Bayard F. Extracellular cleavage of the vascular endothelial growth factor 189-amino acid form by urokinase is required for its mitogenic effect. *J Biol Chem* 1997; 272: 13390-13396 [PMID: 9148962]

2 Hermann DM, Zechariah A. Implications of vascular endothelial growth factor for postischemic neurovascular remodeling. *J Cereb Blood Flow Metab* 2009; 29: 1620-1643 [PMID: 19654590 DOI: 10.1038/jcbfm.2009.100]

3 Zhou TB, Yang GS. Roles of vascular endothelial growth factor in acute rejection reaction following liver transplantation. *Transpl Immunol* 2011; 25: 207-209 [PMID: 21856421 DOI: 10.1016/j.trim.2011.08.001]

4 Higgins GM, Anderson RM. Experimental pathology of the liver I. Restoration of the liver of the white rat following partial surgical removal. *Arch Pathol* 1931; 12: 186-202

5 Moniaux N, Faivre J. Key role of sinusoidal endothelial cells in the triggering of liver regeneration. *J Hepatol* 2011; 55: 488-490 [PMID: 21349303 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.02.005]

6 Ding BS, Nolan DJ, Butler JM, James D, Babazadeh AO, Rosenwaks Z, Mittal V, Kobayashi H, Shido K, Lyden D, Sato TN, Rabbany SY, Rafii S. Inductive angiocrine signals from sinusoidal endothelium are required for liver regeneration. *Nature* 2010; 468: 310-315 [PMID: 21068842 DOI: 10.1038/nature09493]

7 Wang L, Wang X, Wang L, Chiu JD, van de Ven G, Gaarde WA, Deleve LD. Hepatic vascular endothelial growth factor regulates recruitment of rat liver sinusoidal endothelial cell progenitor cells. *Gastroenterology* 2012; 143: 1555-1563. e2 [PMID: 22902870 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.08.008]

8 Ninomiya M, Shirabe K, Terashi T, Ijichi H, Yonemura Y, Harada N, Soejima Y, Taketomi A, Shimada M, Maehara Y. Deceleration of regenerative response improves the outcome of rat with massive hepatectomy. *Am J Transplant* 2010; 10: 1580-1587 [PMID: 20642684 DOI: 10.1111/j.1600-6143.2010.03150.x]

9 Yamamoto C, Yagi S, Hori T, Iida T, Taniguchi K, Isaji S, Uemoto S. Significance of portal venous VEGF during liver regeneration after hepatectomy. *J Surg Res* 2010; 159: e37-e43 [PMID: 19394640 DOI: 10.1016/j.jss.2008.11.007]

10 da Rosa DP, Forgiarini LF, Baronio D, Feijó CA, Martinez D, Marroni NP. Simulating sleep apnea by exposure to intermittent hypoxia induces inflammation in the lung and liver. *Mediators Inflamm* 2012; 2012: 879419 [PMID: 23226929 DOI: 10.1155/2012/879419]

11 Kawasaki T, Murata S, Takahashi K, Nozaki R, Ohshiro Y, Ikeda N, Pak S, Myronovych A, Hisakura K, Fukunaga K, Oda T, Sasaki R, Ohkohchi N. Activation of human liver sinusoidal endothelial cell by human platelets induces hepatocyte proliferation. *J Hepatol* 2010; 53: 648-654 [PMID: 20615569 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.04.021]

12 Takahashi K, Kozuma Y, Suzuki H, Tamura T, Maruyama T, Fukunaga K, Murata S, Ohkohchi N. Human platelets promote liver regeneration with Kupffer cells in SCID mice. *J Surg Res* 2013; 180: 62-72 [PMID: 23260232 DOI: 10.1016/j.jss.2012.11.030]
13 Ronco MT, Francés D, de Luján Alvarez M, Quiroga A, Monti J, Parody JP, Pisani G, Carrillo MC, Carnovale CE. Vascular endothelial growth factor and nitric oxide in rat liver regeneration. *Life Sci* 2007; 81: 750-755 [PMID: 17706723]
14 Yoshida D, Akahoshi T, Kawanaka H, Yamaguchi S, Kinjo N, Taketomi A, Tomikawa M, Shirabe K, Maehara Y, Hashizume M. Roles of vascular endothelial growth factor and endothelial nitric oxide synthase during revascularization and regeneration after partial hepatectomy in a rat model. *Surg Today* 2011; 41: 1622-1629 [PMID: 21969195 DOI: 10.1007/s00595-010-4484-9]
15 Hernandez-Gea V, Friedman SL. Pathogenesis of liver fibrosis. *Annu Rev Pathol* 2011; 6: 425-456 [PMID: 21073339 DOI: 10.1146/annurev-pathol-011110-130246]
16 Lau TY, Xiao J, Liong EC, Liao L, Leung TM, Nanji AA, Fung ML, Tipoe GL. Hepatic response to chronic hypoxia in experimental rat model through HIF-1 alpha, activator protein-1 and NF-kappa B. *Histol Histopathol* 2013; 28: 463-471 [PMID: 23322610]
17 Andrade Wde C, da Silva LF, Coelho MC, Tannuri AC, Alves VA, Tannuri U. Effects of the administration of pentoxifylline and prednisolone on the evolution of portal fibrogenesis secondary to biliary obstruction in growing animals: immunohistochemical analysis of the expression of TGF-β and VEGF. *Clinics* (Sao Paulo) 2012; 67: 1455-1461 [PMID: 23295601]
18 Fernández M, Semela D, Bruix J, Colle I, Pinzani M, Bosch J. Angiogenesis in liver disease. *J Hepatol* 2009; 50: 604-620 [PMID: 19157625 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.12.011]
19 Grünewald FS, Prota AE, Giese A, Ballmer-Hofer K. Structure-function analysis of VEGF receptor activation and the role of coreceptors in angiogenic signaling. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1804: 567-580 [PMID: 19761875 DOI: 10.1016/j.bbapap.2009.09.002]
20 Kajdaniuk D, Marek B, Foltyn W, Kos-Kudła B. Vascular endothelial growth factor (VEGF) - part 1: in physiology and pathophysiology. *Endokrynol Pol* 2011; 62: 444-455 [PMID: 22069106]
21 Thabut D, Shah V. Intrahepatic angiogenesis and sinusoidal remodeling in chronic liver disease: new targets for the treatment of portal hypertension? *J Hepatol* 2010; 53: 976-980 [PMID: 20800926 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.07.004]
22 Rosmorduc O. Antiangiogenic therapies in portal hypertension: a breakthrough in hepatology. *Gastroenterol Clin Biol* 2010; 34: 446-449 [PMID: 20630674 DOI: 10.1016/j.gcb.2010.05.007]
23 Ellis EL, Mann DA. Clinical evidence for the regression of liver fibrosis. *J Hepatol* 2012; 56: 1171-1180 [PMID: 22245903 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.09.024]
24 Liu Y, Wang Z, Wang J, Lam W, Kwong S, Li F, Friedman SL, Zhou S, Ren Q, Xu Z, Wang X, Ji L, Tang S, Zhang H, Lui EL, Ye T. A histone deacetylase inhibitor, largazole, decreases liver fibrosis and angiogenesis by inhibiting transforming growth factor-β and vascular endothelial growth factor signalling. *Liver Int* 2013; 33: 504-515 [PMID: 23279742 DOI: 10.1111/liv.12034]
25 Li X, Cai S, Ning Z, Li Y, Zhang W, Zhang L. [Spironolactone inhibits hepatic sinusoid angiogenesis in rats with hepatic fibrosis]. *Nanfang Yike Daxue Xuebao* 2012; 32: 1135-1138 [PMID: 22931606]
26 Tamaki Y, Nakade Y, Yamauchi T, Makino Y, Yokohama S, Okada M, Aso K, Kanamori H, Ohashi T, Sato K, Nakao H, Haneda M, Yoneda M. Angiotensin II type 1 receptor antagonist prevents hepatic carcinoma in rats with nonalcoholic steatohepatitis. *J Gastroenterol* 2012 Aug 14. *[Epub ahead of print]* [PMID: 22886508]
27 Sakamoto M, Nakamura T, Torimura T, Iwamoto H, Masuda H, Koga H, Abe M, Hashimoto O, Ueno T, Sata M. Transplantation of endothelial progenitor cells ameliorates vascular dysfunction and portal hypertension in carbon tetrachloride-induced rat liver cirrhotic model. *J Gastroenterol Hepatol* 2013; 28: 168-178 [PMID: 22849788 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2012.07238.x]
28 Kaur S, Tripathi D, Dongre K, Garg V, Rooge S, Mukopadhyay A, Sakhuja P, Sarin SK. Increased number and function of endothelial progenitor cells stimulate angiogenesis by resident liver sinusoidal endothelial cells (SECs) in cirrhosis through paracrine factors. *J Hepatol* 2012; 57: 1193-1198 [PMID: 22824816 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.07.016]
29 Wang Y, Lian F, Li J, Fan W, Xu H, Yang X, Liang L, Chen W, Yang J. Adipose derived mesenchymal stem cells transplantation via portal vein improves microcirculation and ameliorates liver fibrosis induced by CCl4 in rats. *J Transl Med* 2012; 10: 133 [PMID: 22735033 DOI: 10.1186/1479-5876-10-133]
30 Zhou L, Wang DS, Li QJ, Sun W, Zhang Y, Dou KF. Downregulation of the Notch signaling pathway inhibits hepatocellular carcinoma cell invasion by inactivation of matrix metalloproteinase-2 and -9 and vascular endothelial growth factor. *Oncol Rep* 2012; 28: 874-882 [PMID: 22736202 DOI: 10.3892/or.2012.1880]
31 Coulon S, Heindryckx F, Geerts A, Van Steenkiste C, Colle I, Van Vlierberghe H. Angiogenesis in chronic liver disease and its complications. *Liver Int* 2011; 31: 146-162 [PMID: 21073649 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2010.02369.x]
32 Mukozu T, Nagai H, Matsui D, Kanekawa T, Sumino Y. Serum VEGF as a Tumor Marker in Patients with HCV-related Liver Cirrhosis and Hepatocellular Carcinoma. *Anticancer Res* 2013; 33: 1013-1021 [PMID: 23482775]
33 Eveno C, Pocard M. VEGF levels and the angiogenic potential of the microenvironment can affect surgical strategy for colorectal liver metastasis. *Cell Adh Migr* 2012; 6: 569-573 [PMID: 23257830 DOI: 10.4161/cam.23247]
34 Gao DM, Sun L, Guo K, Li Y, Liu YK, Kang XN. [Applicability of the multiplex quantitative antibody array system for early diagnosis of hepatocellular carcinoma]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2012; 20: 785-788 [PMID: 23207342 DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2012.10.016]
35 Zhong C, Wei W, Su XK, Li HD, Xu FB, Guo RP. Serum and tissue vascular endothelial growth factor predicts prognosis in hepatocellular carcinoma patients after partial liver resection. *Hepatogastroenterology* 2012; 59: 93-97 [PMID: 22251524 DOI:

10.5754/hge10638]
36 Hu J, Xu Y, Shen ZZ, Wang Z, Lu Q, Yang GH, Ding ZB, Fan J, Zhou J. High expressions of vascular endothelial growth factor and platelet-derived endothelial cell growth factor predict poor prognosis in alpha-fetoprotein-negative hepatocellular carcinoma patients after curative resection. *J Cancer Res Clin Oncol* 2009; 135: 1359-1367 [PMID: 19350273 DOI: 10.1007/s00432-009-0577-5]
37 Jia ZZ, Jiang GM, Feng YL. Serum HIF-1alpha and VEGF levels pre- and post-TACE in patients with primary liver cancer. *Chin Med Sci J* 2011; 26: 158-162 [PMID: 22207924]
38 Höpfner M, Schuppan D, Scherübl H. Growth factor receptors and related signalling pathways as targets for novel treatment strategies of hepatocellular cancer. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 1-14 [PMID: 18176955]
39 Qian LY, Li P, Li XR, Chen DJ, Zhu SH. Multivariate analysis of molecular indicators for postoperative liver metastasis in colorectal cancer cases. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 3967-3971 [PMID: 23098501]
40 Kwon SH, Jeong SW, Jang JY, Lee JE, Lee SH, Kim SG, Kim YS, Cho YD, Kim HS, Kim BS, Jin SY. Cyclooxygenase-2 and vascular endothelial growth factor in chronic hepatitis, cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Clin Mol Hepatol* 2012; 18: 287-294 [PMID: 23091809 DOI: 10.3350/cmh.2012.18.3.287]
41 Liu LP, Ho RL, Chen GG, Lai PB. Sorafenib inhibits hypoxia-inducible factor-1α synthesis: implications for antiangiogenic activity in hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* 2012; 18: 5662-5671 [PMID: 22929805 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-0552]
42 Majumder S, Piguet AC, Dufour JF, Chatterjee S. Study of the cellular mechanism of Sunitinib mediated inactivation of activated hepatic stellate cells and its implications in angiogenesis. *Eur J Pharmacol* 2013; 705: 86-95 [PMID: 23454556 DOI: 10.1016/j.ejphar.2013.02.026]
43 Yoshida M, Goto M, Kii T, Nishitani H, Kawabe S, Kuwakado S, Asaishi K, Miyamoto T, Higuchi K. Retrospective study as first-line chemotherapy combined anti-VEGF antibody with fluoropyrimidine for frail patients with unresectable or metastatic colorectal cancer. *Digestion* 2013; 87: 59-64 [PMID: 23343971 DOI: 10.1159/000343943]
44 Ruan ZP, Xu R, Lv Y, Tian T, Wang WJ, Guo H, Nan KJ. PTEN enhances the sensitivity of human hepatocellular carcinoma cells to sorafenib. *Oncol Res* 2012; 20: 113-121 [PMID: 23193917]
45 Chan SL, Mok T, Ma BB. Management of hepatocellular carcinoma: beyond sorafenib. *Curr Oncol Rep* 2012; 14: 257-266 [PMID: 22434314 DOI: 10.1007/s11912-012-0233-0]
46 Aharinejad S, Krenn K, Zuckermann A, Schäfer R, Gmeiner M, Thomas A, Aliabadi A, Schneider B, Grimm M. Serum matrix metalloprotease-1 and vascular endothelial growth factor--a predict cardiac allograft rejection. *Am J Transplant* 2009; 9: 149-159 [PMID: 19067665 DOI: 10.1111/j.1600-6143.2008.02470.x]
47 Berberat PO, Friess H, Schmied B, Kremer M, Gragert S, Flechtenmacher C, Schemmer P, Schmidt J, Kraus T, Uhl W, Meuer S, Büchler MW, Giese T. Differentially expressed genes in postperfusion biopsies predict early graft dysfunction after liver transplantation. *Transplantation* 2006; 82: 699-704 [PMID: 16969295]
48 Ma T, Liu H, Chen W, Xia X, Bai X, Liang L, Zhang Y, Liang T. Implanted adipose-derived stem cells attenuate small-for-size liver graft injury by secretion of VEGF in rats. Am J Transplant 2012; 12: 620-629 [PMID: 22151301 DOI: 10.1111/j.1600-6143.2011.03870.x]
49 Saito Y, Shimada M, Utsunomiya T, Ikemoto T, Yamada S, Morine Y, Imura S, Mori H, Sugimoto K, Iwahashi S, Asanoma M. The protective effect of adipose-derived stem cells against liver injury by trophic molecules. *J Surg Res* 2013; 180: 162-168 [PMID: 23117122 DOI: 10.1016/j.jss.2012.10.009]
50 Lijnen HR, Scroyen I. Effect of vascular endothelial growth factor receptor 2 antagonism on adiposity in obese mice. *J Mol Endocrinol* 2013; 50: 319-324 [PMID: 23427287]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》栏目设置

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

世界华人消化杂志 2013年5月8日; 21(13): 1197-1204
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

肛裂治疗方式的选择

邓志灏, 赵宝明

邓志灏, 赵宝明, 北京中医药大学东直门医院肛肠科 北京市 100700
邓志灏, 北京中医药大学在读博士研究生, 主要从事中医药防治肛肠疾病的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81072812
作者贡献分布: 本文选题及审校由赵宝明完成; 文献资料搜集与写作由邓志灏完成.
通讯作者: 赵宝明, 教授, 主任医师, 100700, 北京市东城区海运仓5号, 北京中医药大学东直门医院肛肠科.
zhaobaoming1951@126.com
电话: 010-84013137
收稿日期: 2012-12-27 修回日期: 2013-02-25
接受日期: 2013-04-07 在线出版日期: 2013-05-08

Choice of treatments for anal fissure

Zhi-Hao Deng, Bao-Ming Zhao

Zhi-Hao Deng, Bao-Ming Zhao, Department of Proctology, Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81072812
Correspondence to: Bao-Ming Zhao, Professor, Department of Proctology, Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medical, 5 Haiyuncang, Dongchen District, Beijing 100700, China. Zhaobaoming1951@126.com
Received: 2012-12-27 Revised: 2013-02-25
Accepted: 2013-04-07 Published online: 2013-05-08

Abstract

Chronic anal fissure (CAF) is one of the most common and painful proctologic diseases. Its treatment has long been discussed and several different therapeutic options have been proposed. The understanding of its pathophysiology has led to a progressive reduction of invasive and potentially invalidating treatments in favor of conservative treatment. Lateral internal sphincterotomy (LIS) is a surgical treatment that is considered the 'gold standard' therapy for CAF. It relieves CAF symptoms with a high rate of healing. The risk of incontinence after this procedure seems to be severe. Chemical sphincterotomy (CS) is safe, with the rapid relief of pain, no risk of surgery or anesthesia, but is a statistically less effective therapy for CAF than LIS. In recent years, fissurectomy coupled with CS has been demonstrated to be a satisfactory treatment for chronic anal fissure and an alternative to lateral sphincterotomy when conservative measures fail.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Anal fissure; Treatment; Anal fissurectomy

Deng ZH, Zhao BM. Choice of treatments for anal fissure. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(13): 1197-1204 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1197.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i13.1197

摘要

慢性肛裂是一种常见的肛门直肠疾病, 可以引起令人不快的疼痛. 对于肛裂的治疗, 人们经过长期的研究, 建立了许多治疗肛裂的方法. 随着对肛裂病理生理的研究不断深入, 手术治疗在逐渐减少, 而更倾向于应用药物保守治疗. 内括约肌侧切术(lateral internal sphincterotomy, LIS)被认为是治疗肛裂的"金标准", 但是术后可能导致肛门失禁; 化学性内括约肌切开(chemical sphincterotomy, CS)可以较快的缓解疼痛, 没有手术和麻醉的危险, 但是有效率不及LIS. 近年来肛裂切除术联合术后CS作为一种新的治疗方式正在逐渐被人们所接受, 若药物治疗失败后, 其可以作为LIS的一种代替治疗方法.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 肛裂; 治疗方式; 肛裂切除术

核心提示: 肛裂切除术联合术后化学性内括约肌切开, 可以作为药物治疗肛裂失败后的首选治疗方式, 能够提高治愈率, 并且能够避免肛门失禁的危险. 其可以作为肛门内括约肌侧切术的一种代替治疗方法.

邓志灏, 赵宝明. 肛裂治疗方式的选择. 世界华人消化杂志 2013; 21(13): 1197-1204 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1197.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i13.1197

■背景资料
随着人们对生活质量要求的提高, 对肛裂的治疗也从单一的治愈变成治愈的同时能够最大程度的减少痛苦、缩短病程并减少术后并发症, 这就要求肛肠外科医生需要在众多的治疗肛裂的方法中选择最佳的方式.

■同行评议者
王正康, 教授, 中日友好医院普外科

■研发前沿
为了更好的预防和治疗肛裂，人们在不断探寻肛裂的病因及病理生理，而在治疗肛裂时越来越重视肛门内括约肌的保护，故在提高治愈率的同时避免肛门内括约肌的损伤成为今后研究的重点和热点.

0 引言

肛裂的发病机制未明, 现在较为公认的肛裂的本质是缺血性溃疡, 可以概括为缺血-痉挛-缺血, 这一恶性循环. 而对于肛裂的治疗一般采取的方式是括约肌切开, 包括化学性内括约肌切开(chemical sphincterotomy, CS)和手术括约肌切开. 但是从远期疗效来看, CS治愈率低, 复发率高, 而行手术括约肌切开术则可能导致严重的并发症, 如肛门失禁等. 所以如何在手术治疗慢性肛裂的同时最大程度地保留肛门内括约肌的功能就成为一个重要的课题. 本文对肛裂产生的原因、病理生理及治疗方式的选择进行阐述.

1 肛裂

肛裂, 指肛管皮肤全层纵行裂开而形成的溃疡, 可见于各个年龄阶段, 其发生率无性别差异[1], 如果肛裂6 wk未愈, 就被认为是慢性肛裂, 但是根据时间来判断肛裂的分期是不确切的[2], 根据形态学来判断可能会更加合理, 如: 创缘增厚、溃疡较深、创缘底部内括约肌的暴露、肛乳头肥大、赘皮外痔, 这些都是由于慢性的感染及纤维结缔组织的增生引起的[1-3].

1.1 肛裂的病因 肛裂的病因目前仍不清楚, 比较多的从解剖学上进行了不懈的探索, 并提出了许多学说: Ball肛瓣学说、Miles栉膜带学说、Rankin肛窦学说、Blaisdell栅门学说、Arnous上皮学说、Shafik残留上皮学说、Eisenhammer内括约肌学说等. 损伤学说认为: 干燥的粪便引起的创伤和内括约肌的痉挛是导致肛裂的最初原因. 但在肛裂患者中, 仅有25%的患者存在便秘的情况[4], 而6%的患者存在腹泻的情况[3,4].

山地车运动员由于长时间在车座上的颠簸, 导致肛管的裂口, 可引起慢性感染并形成肛裂[5]; 有证据表明应用坐便器的喷水装置可引起前部肛裂[6]; 3%-11%的肛裂的产生与分娩有关, 而且这种肛裂更易发生在肛门的前部[7]. 性虐待也和肛裂有一定的关系[8]. 应用尼可地尔(ATP敏感的钾离子通道开放剂)可能会增加患肛裂的风险[9,10]. 饮食情况会引起症状的改变, 如进食辛辣食物, 会加重肛裂患者的症状[11]. 调查显示饮食习惯、排便习惯及工作性质都会对肛裂的产生有一定的影响.

由于肛裂发生的部位特殊, 人们在肛裂产生时并没有在第一时间就诊. 一项研究表明, 约40%的肛裂患者可以坚持数月甚至数年, 所以大部分患者来就诊时就已经发展到慢性肛裂.

1.2 肛裂产生的部位 肛裂最常见的部位是肛管后正中线, 仅有10%的女性及1%的男性发生前位肛裂[3,4,12]. 肛裂的位置有时发生在肛门侧方, 产生的原因可能是: 炎性肠病、肛门部手术、性病、皮肤病、感染或者肿瘤.

1.3 肛裂的病理生理 肛裂与肛门内括约肌的痉挛有关, 但是痉挛产生的机制未明. Schouten等[13,14]研究发现肛管后正中线皮肤的血供与肛管静息压成负相关, 肛裂处皮肤的血流灌注要少于正常肛管后中线处的皮肤血供. Klosterhalfen等[15]发现, 正常人两侧肛门动脉的分支在肛后连合处约85%的人无吻合, 形成乏血管区.

近代, 随着国内外对肛裂研究的深入, 越来越多的学者认可肛裂的本质是缺血性溃疡, 可以概括为缺血-痉挛-缺血, 这一恶性循环. 所以内括约肌切断术可以降低肛管的压力, 增加肛管皮肤的血供, 从而促进肛裂的愈合.

肛裂的病理生理实质是高肛压低血流. 降低肛管静息压反射性地使内括约肌张力降低,有利于恢复皮肤血供, 但有研究显示, 应用CS治疗肛裂时, 肛管静息压的下降未与肛裂的治愈率成正比[16,17].

如果肛管静息压下降而肛裂并未痊愈, 就需要另一种解释: 肛管静息压下降, 并不一定导致内括约肌在排便时完全扩张, 也未必改善局部血供, 因为肛裂局部的生化因素可能会影响到内括约肌的舒缩[18].

近年发现内皮细胞可以产生释放内皮源性血管舒张因子(endothelium-derived relaxing factor, EDRF), 有研究指出EDRF为一氧化氮(NO)[19]. 若内皮完整, 二磷酸腺苷(adenosine diphosphate, ADP)、三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)、5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)、血小板活化因子、凝血酶、组胺、P物质等这些物质会导致NO和前列环素的释放, 会放松小动脉的肌膜, NO还可以增加血管流量而防止血小板聚集; 若内皮损伤, 有证据表明, 这些物质会收缩平滑肌细胞. 对于肛裂区再生的细胞, 只能释放较少的NO, 并且对5-HT和α2-肾上腺素受体激动剂特别敏感, 故肛裂区域生化环境的改变, 也会引起平滑肌的舒缩.

肛周皮肤的血流灌注与肛管静息压呈负相关, 但血流灌注并不仅仅与内括约肌的机械收缩有关, 而且与肛裂区域的生化环境有关[20]. 当肛管不能产生足够的扩张时, 组织就会被撕裂损伤, 从而改变肛裂区域局部的生化环境, 继而

导致血管平滑肌和内括约肌的收缩, 这是导致肛裂不能顺利愈合的原因. 所以治疗肛裂应该: 降低排便时内括约肌的张力, 改善肛裂区域的生化环境, 从而缓解血管平滑肌和内括约肌的痉挛性收缩.

2 肛裂的药物治疗

肛裂产生的病因有多种, 但最终导致肛门静息压的增高, 而肛门静息压有70%-80%是由肛门内括约肌维持的, 所以治疗肛裂首先要降低内括约肌的张力. LIS仍然被认为是治疗肛裂的金标准, 治愈率高且复发率<10%[21], 但LIS可导致: 肛周感染、出血、尿潴留等并发症[22-24], 当然这些并发症发生的概率较小, 但是排气和排便失禁仍值得注意[25]. Hancke等[26]研究显示: 内括约肌侧切术后3 mo轻微的肛门失禁(如: 排气、污物)为20%, 术后79 mo达47.6%, 甚至更高.

并发症的发生还有麻醉的风险, 导致了医生们要寻找另一种方式去模拟手术治疗肛裂, 故化学性内括约肌切开被广大医生认为是治疗肛裂的一线治疗方法[2,27], 而且也降低了治疗的费用[28]. 最常用的药物有: 肉毒毒素、一氧化氮供体和钙离子通道阻滞剂等.

2.1 肉毒毒素 肉毒毒素于1993年被用于慢性肛裂的治疗, 其主要作用是降低肛管压力, 但在疗效方面, 结果却不尽相同: 一些实验证明他的有效性, 一些实验则认为等同于安慰剂[29], 大剂量的肉毒毒素可能比小剂量的效果好[30,31]. 肉毒毒素可引起暂时性的排气失禁(18%), 排便失禁(5%), 肛周的血栓、血肿及全身症状(3%), 但对于并发症的报道, 结果也是不尽相同[32,33]. Valizadeh等[34]研究发现, 注射肉毒毒素术后1年的治愈率为48%; 术后3-4年复发率为40%-55%[35]. 这种治疗方式在治愈率和并发症等方面存在争议, 剂量应用方面没有统一的标准[36-38]以及注射的部位、注射的深度、注射针与内括约肌的角度都会影响疗效及预后[39].

2.2 一氧化氮供体 自从发现NO可以缓解肛门内括约肌的痉挛以来[40], 硝酸盐就被用于降低肛管压力, 并且在许多临床试验中, 作为治疗肛裂的一线药物使用[41]. 在欧洲许多国家, 硝酸盐的局部使用, 明显减少了需要手术治疗肛裂的人数[42]. Velson等[43]研究指出: 局部应用硝酸盐治疗肛裂要显著优于安慰剂, 能够明显减轻疼痛[44-46], 但是硝酸盐最主要的不良反应是头痛(20%-30%[12], 甚至更高[47]), 还会出现头晕、肛门区灼热等, 随着药物浓度的增大(0.2%-0.4%)治疗效果未见明显提高, 但不良反应明显增加. 为了减少硝酸甘油的不良反应. Pérez-Legaz等[48]研究发现: 0.4%硝酸甘油软膏肛内给药与肛周给药相比, 前者降低了头痛的发生率, 并提高了治愈率. 但这种治疗方式远期复发率较高, Carapeti等[47]经过9 mo的观察, 复发率为33%. Lund等[49]经过28 mo的观察, 复发率为27%. Kirkil等[50]经过5年的观察, 复发率为52.3%.

2.3 钙离子通道阻滞剂 钙离子通道阻滞剂, 一般用于治疗心血管疾病. 口服或肛周局部应用钙离子通道阻滞剂(硝苯地平、地尔硫卓)可以缓解内括约肌痉挛, 降低肛管静息压. Cook等[51]研究发现, 健康志愿者和慢性肛裂患者口服硝苯地平, 他们的肛管静息压都降低了1/3. Carapeti等[52]研究发现: 口服地尔硫卓60 mg, 2次/d, 肛管静息压降低17%, 并且还对不同浓度的地尔硫卓软膏进行试验, 发现2%的软膏能发挥最大作用, 肛管静息压约降低28%, 一次应用效果可维持3-5 h. 钙离子通道阻滞剂与NO供体相比, 在治疗效果方面与硝酸甘油相当, 但可以降低不良反应的发生(头痛、肛门瘙痒等). 其不良反应较小的原因, 可能是因为局部应用, 全身系统吸收较少. Jawaid等[53]研究发现: 运用2%盐酸地尔硫卓和0.2%硝酸甘油治疗慢性肛裂, 随访8 wk, 疗效没有显著差异, 且不良反应前者小于后者. 比较局部应用地尔硫卓和0.2%硝酸甘油的研究显示经过后者治疗无效的患者采用地尔硫卓外用, 其治愈率接近70%[54,55]; 体外实验表明, 两者的联用效果更好[56]. 高复发率是应用本类药物产生的主要问题, 在一项两年的随访试验中[57], 复发率高达60%.

CS对肛裂的治愈率存在较大波动, 原因之一为: 应用药物的剂量和治疗时间的长短不同[58-62]. Lysy等[62]应用7.5 mg硝酸异山梨酯, 1 mo治愈率为83%; 另一项报道: 0.2%硝酸异山梨酯5 wk的治愈率为67%, 10 wk的治愈率为89%; Kirkil等[50]运用5%和10%硝酸异山梨酯治疗40 d的治愈率分别为: 56.7%和63.3%. 另一个原因可能是未统一治愈标准, 如: 溃疡愈合为治愈还是症状消失为治愈? 有的医师建议后者为治愈, 因为对前者的评价增加了医师的主观因素. 非手术治疗的结果不同, 一定程度上也反应了药物的不稳定性.

CS可以较快的缓解症状, 并且没有手术和麻醉的危险, 但是从统计学上分析, 有效率不及

■相关报道
应用肛裂切除联合术后化学性内括约肌切开的方式来治疗肛裂, 国外对此研究较多, 能够减少对内括约肌的损伤, 提高治愈率, 并取得满意疗效.

■应用要点
明确肛裂各种治疗方式的适应症、治愈率、复发率及并发症, 从而根据病情需要选择出最优治疗方式.

LIS[63], 并且有着较高的复发率. Abd Elhady等[64], 通过5年的随访: 肛门内括约肌侧切术、局部应用地尔硫卓、硝酸甘油、肉毒毒素的复发率分别为: 10.0%、65.0%、57.5%、52.5%.

2010年美国结肠与直肠外科医师协会(American Society of Colon and Rectal Surgeons, ASCRS)提出: 肉毒毒素可以治愈60%-80%的肛裂患者, 但是复发率高达42%. 根据ASCRS, 局部应用硝酸盐类药物的治愈率要高于安慰剂. 虽然钙离子通道阻滞剂的不良反应少于硝酸盐类, 但是没有充足的证据表明他优于安慰剂. Arroyo等[65]指出行内括约肌切开术, 手术要比CS疗效好. Nelson等[24]的Meta分析指出: 化学性括约肌切开的有效性可能稍高于安慰剂, 但是远远要低于手术治疗.

综上所述, 鉴于手术内括约肌切开术后的并发症与化学性内括约肌切开术后较高的复发率和不良反应, 外科医师仍在寻找更好的治疗肛裂的方法.

3 肛裂的手术治疗

2004年, Lindsey等[66]发明了一种新的术式, 肛裂切除联合肉毒毒素(25 IU)内括约肌内注射, 用来治疗应用药物治疗失败后的慢性肛裂, 治愈率高达93%; Sileri等[67]研究表明: 肛裂切除联合肉毒毒素注射与内括约肌侧切术的治愈率分别为: 83.3%和98.7%.

肛裂切除术, 曾被报道用于儿童肛裂, 但是很少有关于肛裂切除术单独用于治疗成人肛裂的研究报道. 少量研究报道肛裂切除加内括约肌后位切开术获得较好效果[68-71]. Meier等[72]发现: 肛裂切除术作为一个独立的术式, 可取得令人满意的效果. 对于肛裂切除的远期疗效, Schornagel等[73]研究发现: 肛裂切除术后5年治愈率为88.4%, 且对肛门自制功能的影响较小. 为评价肛裂切除术的疗效, Mousavi等[74]通过对比肛裂切除术与内括约肌侧切术发现: 术后1 wk两种术式疼痛、出血的症状消失; 术后20 mo, 两组患者对手术的满意度分别为: 87.5%和96.6%. 现在内括约肌侧切术仍然是治疗肛裂的金标准, 可获得非常好的效果: 治愈率高达95%且术后疼痛较小. 但是少数患者会出现排便失禁, 虽然几率较小, 一旦发生, 治疗困难.

近几年肛裂切除术作为一种保护内括约肌的手术方式, 取得了较好的治疗效果. 现在肛裂切除术一般和其他治疗方式联用, 如: 药物或者手术. Patti等[75]采用肛裂切除+肛门皮瓣推移成形+内括约肌内30 IU肉毒毒素注射治疗肛门前方伴随肛管压力增高的慢性肛裂, 术后30 d全部治愈, 且术后肛管静息压显著下降. 在之前的一些研究中, 肛裂切除与术后NO供体联用, 取得令人满意的效果, 而且术后标本中仅有少量的内括约肌, 肛门内超声也显示内括约肌并未受到损伤, 这表明肛裂切除术对肛裂的治疗作用并不是直接作用于肛门内括约肌. Abramowitz等[76]一项回顾性研究发现: 肛裂切除联合肛门成形术后一年患者治愈率达100%. Patti等[77]一项前瞻性研究发现: 肛裂切除联合肛门皮瓣推移成形术后30 d全部治愈. Patel等[78]在一项回顾性研究中发现: 肛裂切除联合肛门皮瓣推移成形术与肛门内括约肌侧切术相比较, 术后20 mo, 前者治愈率为96%, 后者为88%; 症状的缓解分别为90%、72%.

4 肛裂治疗方式的选择

在治疗慢性肛裂方面, 运用硝酸甘油、钙离子通道阻滞剂、肉毒毒素、内括约肌侧切术的顺序, 于1999年在第七届欧洲联合胃肠病周上被提出[79], 在2001[30]和2002[33]年推广发行, 随后考虑到药物的有效性和经济因素又在新英格兰杂志中发表[79,80]. 2005年Essani等[28]从疗效和经济方面进行分析: 采用这种顺序约有88%的患者不需要手术治疗就可痊愈, 而且能够降低治疗费用. Gil等[81]研究发现, 慢性肛裂愈合的概率与收缩压和静息压百分比变化相关, 若收缩压/静息压<150%则用药物治愈的可能性较小, 需手术治疗.

从1999年, Madalinski等[37,38,82]多次提出把大剂量应用肉毒毒素作为手术治疗肛裂前, 化学性括约肌切开术的最后一道防线. 2001年, 在文献中第一次提到了联合硝酸甘油大剂量应用肉毒毒素(50-100 IU)可以提高慢性肛裂的治愈率[67]. 若应用大剂量肉毒毒素2-3 wk后, 症状和注射之前没有明显的改善, 就应该考虑内括约肌侧切除术, 但是在行内括约肌侧切术之前, 肛裂切除术联合术后化学性内括约肌切开应被考虑. 有研究表明在应用硝酸异山梨酯治疗肛裂失败以后, 采取肛裂切除加局部应用硝酸异山梨酯, 全部治愈, 而且术后随访29 mo无一复发; 肛裂切除联合肉毒毒素注射, 随访16 wk, 治愈率高达93%[27].

由于肉毒毒素价格昂贵且容易引起肛门失禁及肛周脓肿, 越来越多的人希望用其他的替代方法去治疗肛裂. 为了寻找更好的方法, Ar-

thur等[83]研究发现肛裂切除配合40 IU肉毒毒素注射与肛裂切除配合术后8 wk的2%地尔硫卓外用, 治愈率分别为89.3%和82.6%, 无显著差异. 肉毒毒素能够持久缓解肛门痉挛, 这是他的优势, 但同时也是他的劣势: 术后导致不同程度的肛门排气排便失禁, 故在选择这种术式的时候还是很谨慎的. 虽然地尔硫卓的局部应用会导致肛门瘙痒, 但这是应用药物后导致肛门潮湿引起的, 而且是短暂的.

5 结论

在选择合适的方法治疗慢性肛裂的时候, 我们应该明白哪个阶段的肛裂适合化学性括约肌切开, 更应该明白内括约肌切开所带来的病理生理意义. 随着社会科技发展, 对内括约切开术后长时间随访研究的进行, 现在治疗肛裂越来越重视内括约肌的保护, 避免使其损伤. 故在药物治疗肛裂失败后, 采用肛裂切除术联合术后化学性括约肌切开是一个较为理想的治疗方法.

6 参考文献

1 Dykes SL, Madoff RD. Benign Anorectal: Anal Fissure. In: Wolff BG, Fleshman JW, Beck DE, Pemberton JH, Wexner SD, editors. The ASCRS textbook of colon and rectal surgery. New York: Springer Science and Business Media LLC, 2007: 178-191 [DOI: 10.1007/978-0-387-36374-5_12]

2 Wollina U. Pharmacological sphincterotomy for chronic anal fissures by botulinum toxin a. *J Cutan Aesthet Surg* 2008; 1: 58-63 [PMID: 20300345 DOI: 10.4103/0974-2077.44160]

3 Brisinda G, Cadeddu F, Brandara F, Brisinda D, Maria G. Treating chronic anal fissure with botulinum neurotoxin. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2004; 1: 82-89 [PMID: 16265069 DOI: 10.1038/ncpgasthep0048]

4 Lund JN, Scholefield JH. Aetiology and treatment of anal fissure. *Br J Surg* 1996; 83: 1335-1344 [PMID: 8944447 DOI: 10.1002/bjs.1800831006]

5 Sauper T, Lanthaler M, Biebl M, Weiss H, Nehoda H. Impaired anal sphincter function in professional cyclists. *Wien Klin Wochenschr* 2007; 119: 170-173 [PMID: 17427020 DOI: 10.1007/s00508-006-0741-8]

6 Garg P. Water stream in a bidet-toilet as a cause of anterior fissure-in-ano: a preliminary report. *Colorectal Dis* 2010; 12: 601-602 [PMID: 19486098 DOI: 10.1111/j.1463-1318.2009.01867.x]

7 Jenkins JT, Urie A, Molloy RG. Anterior anal fissures are associated with occult sphincter injury and abnormal sphincter function. *Colorectal Dis* 2008; 10: 280-285 [PMID: 17655720 DOI: 10.1111/j.1463-1318.2007.01335.x]

8 Nzimbala MJ, Bruyninx L. Chronic anal fissure from suspected adult sexual abuse in a traumatic anal sex practice patient. *Acta Chir Belg* 2007; 107: 566-569 [PMID: 18074923]

9 Watson A, Al-Ozairi O, Fraser A, Loudon M, O'Kelly T. Nicorandil associated anal ulceration. *Lancet* 2002; 360: 546-547 [PMID: 12241662]

10 Baker RP, Al-Kubati W, Atuf M, Phillips RK. Nicorandil-induced severe perianal ulceration. *Tech Coloproctol* 2007; 11: 343-345 [PMID: 18060591 DOI: 10.1007/s10151-007-0378-2]

11 Gupta PJ. Consumption of red-hot chili pepper increases symptoms in patients with acute anal fissures. A prospective, randomized, placebo-controlled, double blind, crossover trial. *Arq Gastroenterol* 2008; 45: 124-127 [PMID: 18622465]

12 Perry WB, Dykes SL, Buie WD, Rafferty JF. Practice parameters for the management of anal fissures (3rd revision). *Dis Colon Rectum* 2010; 53: 1110-1115 [PMID: 20628272 DOI: 10.1007/DCR.0b013e3181e23dfe]

13 Schouten WR, Briel JW, Auwerda JJ. Relationship between anal pressure and anodermal blood flow. The vascular pathogenesis of anal fissures. *Dis Colon Rectum* 1994; 37: 664-669 [PMID: 8026232]

14 Schouten WR, Briel JW, Auwerda JJ, De Graaf EJ. Ischaemic nature of anal fissure. *Br J Surg* 1996; 83: 63-65 [PMID: 8653368]

15 Klosterhalfen B, Vogel P, Rixen H, Mittermayer C. Topography of the inferior rectal artery: a possible cause of chronic, primary anal fissure. *Dis Colon Rectum* 1989; 32: 43-52 [PMID: 2910660]

16 Thornton MJ, Kennedy ML, King DW. Prospective manometric assessment of botulinum toxin and its correlation with healing of chronic anal fissure. *Dis Colon Rectum* 2005; 48: 1424-1431 [PMID: 15906131 DOI: 10.1007/s10350-005-0025-9]

17 Ho KS, Ho YH. Randomized clinical trial comparing oral nifedipine with lateral anal sphincterotomy and tailored sphincterotomy in the treatment of chronic anal fissure. *Br J Surg* 2005; 92: 403-408 [PMID: 15739214 DOI: 10.1002/bjs.4882]

18 Madaliński M, Chodorowski Z. Relation between botulinum toxin and nitric oxide donors in the treatment of chronic anal fissure. *Med Sci Monit* 2005; 11: HY1-HY5 [PMID: 15668639]

19 Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987; 84: 9265-9269 [PMID: 2827174]

20 Madalinski M, Chodorowski Z. Why the most potent toxin may heal anal fissure. *Adv Ther* 2006; 23: 627-634 [PMID: 17050505]

21 Aivaz O, Rayhanabad J, Nguyen V, Haigh PI, Abbas M. Botulinum toxin A with fissurectomy is a viable alternative to lateral internal sphincterotomy for chronic anal fissure. *Am Surg* 2009; 75: 925-928 [PMID: 19886136]

22 Ogilvie JW, Ricciardi R. Complications of perineal surgery. *Clin Colon Rectal Surg* 2009; 22: 51-59 [PMID: 20119557 DOI: 10.1055/s-0029-1202887]

23 Yüksel O, Bostanci H, Leventoğlu S, Sahin TT, Menteş BB. Keyhole deformity: a case series. *J Gastrointest Surg* 2008; 12: 1110-1114 [PMID: 18213502 DOI: 10.1007/s11605-008-0471-5]

24 Nelson RL, Thomas K, Morgan J, Jones A. Non surgical therapy for anal fissure. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; 2: CD003431 [PMID: 22336789 DOI: 10.1002/14651858]

25 Metcalf AM. Anal fissure. *Surg Clin North Am* 2002; 82: 1291-1297 [PMID: 12516855]

26 Hancke E, Rikas E, Suchan K, Völke K. Dermal flap

■同行评价

本文介绍了肛裂治疗的最新进展, 对侧方内括约肌切开术、肛裂切除加皮瓣推移成形术、化学性内括约肌切开术的优缺点进行了分析, 对临床实践具有一定的参考价值.

coverage for chronic anal fissure: lower incidence of anal incontinence compared to lateral internal sphincterotomy after long-term follow-up. *Dis Colon Rectum* 2010; 53: 1563-1568 [PMID: 20940607 DOI: 10.1007/DCR.0b013e3181f0869f]

27 Lindsey I, Jones OM, Cunningham C, George BD, Mortensen NJ. Botulinum toxin as second-line therapy for chronic anal fissure failing 0.2 percent glyceryl trinitrate. *Dis Colon Rectum* 2003; 46: 361-366 [PMID: 12626912 DOI: 10.1007/s10350-004-6556-7]

28 Essani R, Sarkisyan G, Beart RW, Ault G, Vukasin P, Kaiser AM. Cost-saving effect of treatment algorithm for chronic anal fissure: a prospective analysis. *J Gastrointest Surg* 2005; 9: 1237-1243; discussion 1237-1243 [PMID: 16332479 DOI: 10.1016/j.gassur.2005.07.007]

29 Siproudhis L, Sébille V, Pigot F, Hémery P, Juguet F, Bellissant E. Lack of effficacy of botulinum toxin in chronic anal fissure. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 18: 515-524 [PMID: 12950424]

30 Madalinski MH, Slawek J, Zbytek B, Duzynski W, Adrich Z, Jagiello K, Kryszewski A. Topical nitrates and the higher doses of botulinum toxin for chronic anal fissure. *Hepatogastroenterology* 2001; 48: 977-979 [PMID: 11490852]

31 Brisinda G, Maria G, Sganga G, Bentivoglio AR, Albanese A, Castagneto M. Effectiveness of higher doses of botulinum toxin to induce healing in patients with chronic anal fissures. *Surgery* 2002; 131: 179-184 [PMID: 11854696]

32 Jost WH, Schanne S, Mlitz H, Schimrigk K. Perianal thrombosis following injection therapy into the external anal sphincter using botulin toxin. *Dis Colon Rectum* 1995; 38: 781 [PMID: 7607047]

33 Madaliński MH, Sławek J, Duzyński W, Zbytek B, Jagiełło K, Adrich Z, Kryszewski A. Side effects of botulinum toxin injection for benign anal disorders. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002; 14: 853-856 [PMID: 12172405]

34 Valizadeh N, Jalaly NY, Hassanzadeh M, Kamani F, Dadvar Z, Azizi S, Salehimarzijarani B. Botulinum toxin injection versus lateral internal sphincterotomy for the treatment of chronic anal fissure: randomized prospective controlled trial. *Langenbecks Arch Surg* 2012; 397: 1093-1098 [PMID: 22430300 DOI: 10.1007/s00423-012-0948-2]

35 Arroyo A, Perez F, Serrano P, Candela F, Calpena R. Long-term results of botulinum toxin for the treatment of chronic anal fissure: prospective clinical and manometric study. *Int J Colorectal Dis* 2005; 20: 267-271 [PMID: 15526113 DOI: 10.1007/s00384-004-0644-y]

36 Schubert MC, Sridhar S, Schade RR, Wexner SD. What every gastroenterologist needs to know about common anorectal disorders. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 3201-3209 [PMID: 19598294]

37 Madalinski M. The treatment algorithm instead of the unknown optimal dose of botulinum toxin for chronic anal fissure. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20: 125; author reply 125-127 [PMID: 15225181 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2004.02011.x]

38 Madalinski M. Botulinum neurotoxin and other treatments for fissure-in-ano and pelvic floor disorders (Br J Surg 2002; 89: 950-961). *Br J Surg* 2002; 89: 1620-1621; author reply 1821 [PMID: 12445078 DOI: 10.1046/j.1365-2168.2002.22515.x]

39 Madalinski M. To predict and understand anal fissure healing. *Int J Colorectal Dis* 2011; 26: 263 [PMID: 20549217 DOI: 10.1007/s00384-010-0983-9]

40 Rattan S, Chakder S. Role of nitric oxide as a mediator of internal anal sphincter relaxation. *Am J Physiol* 1992; 262: G107-G112 [PMID: 1733256]

41 Collins EE, Lund JN. A review of chronic anal fissure management. *Tech Coloproctol* 2007; 11: 209-223 [PMID: 17676270 DOI: 10.1007/s10151-007-0355-9]

42 Lund JN, Nyström PO, Coremans G, Herold A, Karaitianos I, Spyrou M, Schouten WR, Sebastian AA, Pescatori M. An evidence-based treatment algorithm for anal fissure. *Tech Coloproctol* 2006; 10: 177-180 [PMID: 16969620 DOI: 10.1007/s10151-006-0276-z]

43 Nelson R. A systematic review of medical therapy for anal fissure. *Dis Colon Rectum* 2004; 47: 422-431 [PMID: 14994109 DOI: 10.1007/s10350-003-0079-5]

44 Kennedy ML, Sowter S, Nguyen H, Lubowski DZ. Glyceryl trinitrate ointment for the treatment of chronic anal fissure: results of a placebo-controlled trial and long-term follow-up. *Dis Colon Rectum* 1999; 42: 1000-1006 [PMID: 10458121]

45 Bailey HR, Beck DE, Billingham RP, Binderow SR, Gottesman L, Hull TL, Larach SW, Margolin DA, Milsom JW, Potenti FM, Rafferty JF, Riff DS, Sands LR, Senagore A, Stamos MJ, Yee LF, Young-Fadok TM, Gibbons RD. A study to determine the nitroglycerin ointment dose and dosing interval that best promote the healing of chronic anal fissures. *Dis Colon Rectum* 2002; 45: 1192-1199 [PMID: 12352236 DOI: 10.1097/01.DCR.0000027060.14159.6E]

46 Altomare DF, Rinaldi M, Milito G, Arcanà F, Spinelli F, Nardelli N, Scardigno D, Pulvirenti-D'Urso A, Bottini C, Pescatori M, Lovreglio R. Glyceryl trinitrate for chronic anal fissure--healing or headache? Results of a multicenter, randomized, placebo-controled, double-blind trial. *Dis Colon Rectum* 2000; 43: 174-179; discussion 174-179 [PMID: 10696890]

47 Carapeti EA, Kamm MA, McDonald PJ, Chadwick SJ, Melville D, Phillips RK. Randomised controlled trial shows that glyceryl trinitrate heals anal fissures, higher doses are not more effective, and there is a high recurrence rate. *Gut* 1999; 44: 727-730 [PMID: 10205213]

48 Pérez-Legaz J, Arroyo A, Moya P, Ruiz-Tovar J, Frangi A, Candela F, Oliver MI, Calpena R. Perianal versus endoanal application of glyceryl trinitrate 0.4% ointment in the treatment of chronic anal fissure: results of a randomized controlled trial. Is this the solution to the headaches? *Dis Colon Rectum* 2012; 55: 893-899 [PMID: 22810476 DOI: 10.1097/DCR.0b013e31825a9f1f]

49 Lund JN, Scholefield JH. Follow-up of patients with chronic anal fissure treated with topical glyceryl trinitrate. *Lancet* 1998; 352: 1681 [PMID: 9853449 DOI: 10.1016/S0140-6736(05)61453-5]

50 Kirkil C, Aygen E, Doğru O, Ilhan YS, Ayten R, Camci C, Göğebakan O. The efficiency of various doses of topical isosorbide dinitrate in the treatment of chronic anal fissure and the long-term results: a prospective, randomized and controlled clinical trial. *Turk J Gastroenterol* 2012; 23: 28-32 [PMID: 22505376]

51 Cook TA, Humphreys MM, McC Mortensen NJ. Oral nifedipine reduces resting anal pressure and heals chronic anal fissure. *Br J Surg* 1999; 86: 1269-1273 [PMID: 10540130 DOI: 10.1046/j.1365-2168.1999.01292.

x]
52 Carapeti EA, Kamm MA, Phillips RK. Topical diltiazem and bethanechol decrease anal sphincter pressure and heal anal fissures without side effects. *Dis Colon Rectum* 2000; 43: 1359-1362 [PMID: 11052511]
53 Jawaid M, Masood Z, Salim M. Topical diltiazem hydrochloride and glyceryl trinitrate in the treatment of chronic anal fissure. *J Coll Physicians Surg Pak* 2009; 19: 614-617 [PMID: 19811710 DOI: 10.2009/JCPSP.614617]
54 Griffin N, Acheson AG, Jonas M, Scholefield JH. The role of topical diltiazem in the treatment of chronic anal fissures that have failed glyceryl trinitrate therapy. *Colorectal Dis* 2002; 4: 430-435 [PMID: 12790914]
55 Jonas M, Speake W, Scholefield JH. Diltiazem heals glyceryl trinitrate-resistant chronic anal fissures: a prospective study. *Dis Colon Rectum* 2002; 45: 1091-1095 [PMID: 12195195]
56 Jonas-Obichere M, Scholefield JH, Acheson A, Mundey M, Tyler H, Wilson VG. Comparison of the effects of nitric oxide donors and calcium channel blockers on the intrinsic myogenic tone of sheep isolated internal anal sphincter. *Br J Surg* 2005; 92: 1263-1269 [PMID: 16044408 DOI: 10.1002/bjs.5070]
57 Nash GF, Kapoor K, Saeb-Parsy K, Kunanadam T, Dawson PM. The long-term results of diltiazem treatment for anal fissure. *Int J Clin Pract* 2006; 60: 1411-1413 [PMID: 16911570 DOI: 10.1111/j.1742-1241.2006.00895.x]
58 Schouten WR, Briel JW, Boerma MO, Auwerda JJ, Wilms EB, Graatsma BH. Pathophysiological aspects and clinical outcome of intra-anal application of isosorbide dinitrate in patients with chronic anal fissure. *Gut* 1996; 39: 465-469 [PMID: 8949655]
59 Lund JN, Scholefield JH. Glyceryl trinitrate is an effective treatment for anal fissure. *Dis Colon Rectum* 1997; 40: 468-470 [PMID: 9106698]
60 Parellada C. Randomized, prospective trial comparing 0.2 percent isosorbide dinitrate ointment with sphincterotomy in treatment of chronic anal fissure: a two-year follow-up. *Dis Colon Rectum* 2004; 47: 437-443 [PMID: 14994114 DOI: 10.1007/s10350-003-0090-x]
61 Oettlé GJ. Glyceryl trinitrate vs. sphincterotomy for treatment of chronic fissure-in-ano: a randomized, controlled trial. *Dis Colon Rectum* 1997; 40: 1318-1320 [PMID: 9369106]
62 Lysy J, Israelit-Yatzkan Y, Sestiere-Ittah M, Keret D, Goldin E. Treatment of chronic anal fissure with isosorbide dinitrate: long-term results and dose determination. *Dis Colon Rectum* 1998; 41: 1406-1410 [PMID: 9823807]
63 Madalinski M, Kalinowski L. Novel options for the pharmacological treatment of chronic anal fissure--role of botulin toxin. *Curr Clin Pharmacol* 2009; 4: 47-52 [PMID: 19149501]
64 Abd Elhady HM, Othman IH, Hablus MA, Ismail TA, Aboryia MH, Selim MF. Long-term prospective randomised clinical and manometric comparison between surgical and chemical sphincterotomy for treatment of chronic anal fissure. *S Afr J Surg* 2009; 47: 112-114 [PMID: 20141067]
65 Arroyo A, Pérez F, Serrano P, Candela F, Lacueva J, Calpena R. Surgical versus chemical (botulinum toxin) sphincterotomy for chronic anal fissure: long-term results of a prospective randomized clinical and manometric study. *Am J Surg* 2005; 189: 429-434 [PMID: 15820455 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2004.06.045]
66 Lindsey I, Cunningham C, Jones OM, Francis C, Mortensen NJ. Fissurectomy-botulinum toxin: a novel sphincter-sparing procedure for medically resistant chronic anal fissure. *Dis Colon Rectum* 2004; 47: 1947-1952 [PMID: 15622590]
67 Sileri P, Stolfi VM, Franceschilli L, Grande M, Di Giorgio A, D'Ugo S, Attina' G, D'Eletto M, Gaspari AL. Conservative and surgical treatment of chronic anal fissure: prospective longer term results. *J Gastrointest Surg* 2010; 14: 773-780 [PMID: 20195915 DOI: 10.1007/s11605-010-1154-6]
68 Bode WE, Culp CE, Spencer RJ, Beart RW. Fissurectomy with superficial midline sphincterotomy. A viable alternative for the surgical correction of chronic fissure/ulcer-in-ano. *Dis Colon Rectum* 1984; 27: 93-95 [PMID: 6697837]
69 Abcarian H, Lakshmanan S, Read DR, Roccaforte P. The role of internal sphincter in chronic anal fissures. *Dis Colon Rectum* 1982; 25: 525-528 [PMID: 7117055]
70 Abcarian H. Surgical correction of chronic anal fissure: results of lateral internal sphincterotomy vs. fissurectomy--midline sphincterotomy. *Dis Colon Rectum* 1980; 23: 31-36 [PMID: 7379649]
71 Di Castro A, Biancari F, D'Andrea V, Caviglia A. Fissurectomy with posterior midline sphincterotomy and anoplasty (FPSA) in the management of chronic anal fissures. *Surg Today* 1997; 27: 975-978 [PMID: 10870590]
72 Meier zu Eissen J. [Chronic anal fissure, therapy]. *Kongressbd Dtsch Ges Chir Kongr* 2001; 118: 654-656 [PMID: 11824335]
73 Schornagel IL, Witvliet M, Engel AF. Five-year results of fissurectomy for chronic anal fissure: low recurrence rate and minimal effect on continence. *Colorectal Dis* 2012; 14: 997-1000 [PMID: 21955514 DOI: 10.1111/j.1463-1318.2011.02840.x]
74 Mousavi SR, Sharifi M, Mehdikhah Z. A comparison between the results of fissurectomy and lateral internal sphincterotomy in the surgical management of chronic anal fissure. *J Gastrointest Surg* 2009; 13: 1279-1282 [PMID: 19415396 DOI: 10.1007/s11605-009-0908-5]
75 Patti R, Famà F, Tornambè A, Asaro G, Di Vita G. Fissurectomy combined with anoplasty and injection of botulinum toxin in treatment of anterior chronic anal fissure with hypertonia of internal anal sphincter: a pilot study. *Tech Coloproctol* 2010; 14: 31-36 [PMID: 20127381 DOI: 10.1007/s10151-009-0562-7]
76 Abramowitz L, Bouchard D, Souffran M, Devulder F, Ganansia R, Castinel A, Suduca JM, Soudan D, Varastet M, Staumont G; for the GREP and the CREGG. Sphincter-sparing anal fissure surgery: A one-year prospective, observational, multicentre study of fissurectomy with anoplasty. *Colorectal Dis* 2012 Jul 7. *[Epub ahead of print]* [PMID: 22776322 DOI: 10.1111/.1463-1318.2012.03176.x]
77 Patti R, Territo V, Aiello P, Angelo GL, Di Vita G. Manometric evaluation of internal anal sphincter after fissurectomy and anoplasty for chronic anal fissure: a prospective study. *Am Surg* 2012; 78: 523-527 [PMID: 22546122]
78 Patel SD, Oxenham T, Praveen BV. Medium-term results of anal advancement flap compared with

lateral sphincterotomy for the treatment of anal fissure. *Int J Colorectal Dis* 2011; 26: 1211-1214 [PMID: 21562745 DOI: 10.1007/s00384-011-1234-4]
79 Kaiser AM. A comparison of botulinum toxin and nitroglycerin ointment for chronic anal fissure. *N Engl J Med* 1999; 341: 1701 [PMID: 10610441 DOI: 10.1056/NEJM199911253412217]
80 Vogel JD. A comparison of botulinum toxin and nitroglycerin ointment for chronic anal fissure. *N Engl J Med* 1999; 341: 1701 [PMID: 10610442]
81 Gil J, Luján J, Hernández Q, Gil E, Salom MG, Parrilla P. Screening for the effectiveness of conservative treatment in chronic anal fissure patients using anorectal manometry. *Int J Colorectal Dis* 2010; 25: 649-654 [PMID: 20127340 DOI: 10.1007/s00384-010-0885-x]
82 Madalinski MH, Slawek J. The higher doses of botulinum toxin and the potentiate effect of its action after nitric oxide donors application for the treatment of chronic anal fissure. *Surgery* 2003; 133: 455; author reply 455-456 [PMID: 12717372 DOI: 10.1067/msy.2003.121]
83 Arthur JD, Makin CA, El-Sayed TY, Walsh CJ. A pilot comparative study of fissurectomy/diltiazem and fissurectomy/botulinum toxin in the treatment of chronic anal fissure. *Tech Coloproctol* 2008; 12: 331-336; discussion 336 [PMID: 19018466 DOI: 10.1007/s10151-008-0444-4]

编辑 李军亮 电编 鲁亚静

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

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775

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

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2013年5月8日; 21(13): 1205-1210
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

活化大鼠肝星状细胞新表达甘丙肽2型受体拮抗甘丙肽增殖抑制作用

丁永年, 李郑红, 徐雷鸣, 熊静平, 陈源文, 范建高

丁永年, 熊静平, 新疆医科大学第二附属医院消化内科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830028
李郑红, 徐雷鸣, 陈源文, 范建高, 上海交通大学医学院附属新华医院消化内科 上海市 200092
丁永年, 副教授, 主任医师, 主要从事慢性肝病防治方面的研究.
新疆维吾尔自治区自然科学基金资助项目, No. 211233146-10
作者贡献分布: 丁永年与李郑红对此文所作贡献均等; 课题由徐雷鸣与陈源文设计; 研究过程由李郑红与熊静平完成; 研究所用试剂与分析工具由陈源文与范建高提供; 数据分析由丁永年与陈源文完成; 本论文写作由丁永年、李郑红及陈源文完成.
通讯作者: 陈源文, 副主任医师, 200092, 上海市控江路1665号, 上海交通大学医学院附属新华医院消化内科. shsmus@263.net
收稿日期: 2013-01-15 修回日期: 2013-04-01
接受日期: 2013-04-12 在线出版日期: 2013-05-08

Newly expressed galanin type 2 receptor suppresses proliferation of activated hepatic stellate cells

Yong-Nian Ding, Zheng-Hong Li, Lei-Ming Xu, Jing-Ping Xiong, Yuan-Wen Chen, Jian-Gao Fan

Yong-Nian Ding, Jing-Ping Xiong, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830028, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Zheng-Hong Li, Lei-Ming Xu, Yuan-Wen Chen, Jian-Gao Fan, Department of Gastroenterology, Xinhua Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200092, China
Supported by: the Natural Science Foundation of Xinjiang Uygur Autonomous Region, No. 211233146-10
Correspondence to: Yuan-Wen Chen, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Xinhua Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, 1665 Kongjiang Road, Shanghai 200092, China. shsmus@263.net
Received: 2013-01-15 Revised: 2013-04-01
Accepted: 2013-04-12 Published online: 2013-05-08

Abstract

AIM: To investigate the expression of galanin receptors in hepatic stellate cells (HSCs) and their role in HSC proliferation.

METHODS: HSCs were isolated from rats by *in situ* liver perfusion with collagenase and pronase E and cultured for 1 wk. Cells were then harvested and the mRNA expression of galanin and its three receptors (GalR1, GalR2 and GalR3) was determined by semi-quantitative RT-PCR. HSC-T6, an immortalized and activated rat liver stellate cell line, was cultured *in vitro* to confirm the presence of GalR2 protein by immunocytofluorescence. Cultured HSC-T6 cells were then treated with galanin at concentrations from 0 to 10000 nmol/L for 24 h, in the presence or absence of a GalR2 neutralization antibody (5 μg/mL). Cell proliferation was assessed by MTT assay.

RESULTS: Galanin mRNA and GalR3 mRNA were expressed by both quiescent and activated HSCs. GalR2 mRNA was undetectable in quiescent HSCs but was markedly expressed by activated HSCs. GalR1 mRNA was not detected in either quiescent or activated HSCs. The presence of GalR2 protein in activated HSC was further confirmed by immunocytofluorescence in HSC-T6 cells. Treatment with galanin at a concentration of 1, 10, 100 or 1000 nmol/L resulted in a reduction of cell proliferation to 86.7% (t = 3.976, P = 0.028), 83.1% (t = 4.45, P = 0.012), 78.1% (t = 5.75, P = 0.006) and 73.1% (t = 5.38, P = 0.008) of that of controls. Complete GalR2 neutralization enhanced the inhibitory effect of galanin, and the proliferation of cells treated with 1 or 10 nmol/L of galanin was reduced to 67.9% (t = 5.11, P = 0.015) and 73.1% (t = 6.56, P = 0.003) of that of controls. There was a further reduction of 21.7% (t = 3.35, P = 0.028) and 12.6% (t = 2.78, P = 0.049) compared with the corresponding galanin-treated group.

CONCLUSION: Newly expressed GalR2 counteracts GalR1-mediated inhibitory effect of galanin on the proliferation of activated HSCs.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Galanin; Hepatic stellate cells; Receptor; Proliferation

Ding YN, Li ZH, Xu LM, Xiong JP, Chen YW, Fan JG. Newly expressed galanin type 2 receptor suppresses proliferation of activated hepatic stellate cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(13): 1205-1210 URL:

■背景资料
肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)活化是肝纤维化的中心环节, 瘦素促进HSC的促纤化功能, 而甘丙肽是瘦素的内源性生理拮抗因子, 许多能量代谢相关生物学功能与瘦素相互拮抗, 但是甘丙肽是否也影响HSC功能参与肝纤维化的发病目前未见报道.

■同行评议者
金山, 主任医师, 内蒙古医学院附属医院普通外科

■研发前沿
HSC活化过程中功能调控机制的研究是肝纤维化防治研究的热点.

http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1205.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i13.1205

摘要

目的: 探讨甘丙肽受体在肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)中表达和对细胞增殖的影响.

方法: 使用胶原酶原位灌注法分离大鼠原代HSC体外培养, 半定量RT-PCR法检测静止期(0 wk)和培养活化(1 wk)HSC中甘丙肽及其3种受体(GalR1、GalR2和GalR3)表达变化. 大鼠HSC-T6细胞株体外培养, 免疫荧光法检测GalR2蛋白在HSC-T6细胞中表达; 给或不给GalR2中和抗体(5 μg/mL), MTT法观察不同浓度甘丙肽(0-10000 nmol/L)干预后甘丙肽对HSC增殖和活力的影响.

结果: 成功分离大鼠原代HSC和体外培养. 静止期及活化的HSC均可检测到甘丙肽及GalR3 mRNA表达, 但无GalR1 mRNA表达, 而GalR2 mRNA在活化HSC中表达. 细胞免疫荧光法进一步证实GalR2蛋白在HSC-T6中表达. 甘丙肽处理时, HSC-T6增殖水平在1、10、100和1000 nmol/L甘丙肽时分别下降至对照组的86.7%(t = 3.976, P = 0.028)、83.1%(t = 4.45, P = 0.012)、78.1% (t = 5.75, P = 0.006)和73.1%(t = 5.38, P = 0.008); 给予GalR2中和抗体联合干预时, HSC-T6增殖抑制在甘丙肽1和10 nmol/L时即降至相应对照组67.9%(t = 5.11, P = 0.015)和73.1%(t = 6.56, P = 0.003), 与相应浓度甘丙肽组相比, 分别下降21.7%(t = 3.35, P = 0.028)和12.6%(t = 2.78, P = 0.049).

结论: HSC活化时新表达GalR2拮抗GalR1介导的甘丙肽对HSC增殖抑制作用.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 甘丙肽; 肝星状细胞; 受体; 增殖

核心提示: 通过研究甘丙肽及其3种受体在不同活化状态下在肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)中的表达情况以及比较不同受体对HSC增殖活性的影响, 为甘丙肽在HSC生物学功能调控中的作用提供了实验基础, 且为甘丙肽在肝纤维化中的重要作用研究提供实验依据.

丁永年, 李郑红, 徐雷鸣, 熊静平, 陈源文, 范建高. 活化大鼠肝星状细胞新表达甘丙肽2型受体拮抗甘丙肽增殖抑制作用. 世界华人消化杂志 2013; 21(13): 1205-1210 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1205.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i13.1205

0 引言

肝纤维化是慢性肝病发展至肝硬化的必由病理阶段, 其基本特征为过量细胞外基质沉积于肝脏[1]. 虽然肝纤维化时产纤维细胞来源目前存在一些争议, 但大多数研究认为由肝窦内静止期肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)活化转化而来的肌成纤维母细胞样(myofibroblast-like)细胞, 是肝纤维化时细胞外基质的主要来源[2], 调控HSC功能是治疗肝纤维化关键靶点[1,3]. HSC功能受细胞因子调控, 其中瘦素起重要的促纤维化作用. 瘦素作用于活化HSC, 促进HSC增殖并抑制其凋亡[4]、促进肝内转化生长因子-β1表达、减少基质金属蛋白酶1形成抑制细胞外基质(extracellular matrix, ECM)降解和上调促炎症因子等, 导致肝纤维化进展[4,5].

甘丙肽是瘦素的内源性生理拮抗因子. 甘丙肽由29个氨基酸残基组成, 目前已经克隆出3种甘丙肽受体(galanin receptor, GalR), 分别是GalR1, GalR2和GalR3[6]. 甘丙肽及其受体在哺乳动物组织中分布广泛, 作用多样, 包括参与学习记忆、能量代谢、摄食活动和抑制胰岛素释放[7]、炎症反应调控[8]、细胞增殖与凋亡[9]等. 甘丙肽的许多能量代谢相关生物学功能与瘦素相互拮抗[10,11], 其分泌水平还存在负反馈调控[12,13].

甘丙肽在肝纤维化发生发展过程中的作用迄今未见报道, 也未见甘丙肽及其受体在HSC中的表达情况和功能的研究报道. 为此, 本研究将通过分离大鼠原代静止期HSC和大鼠HSC-T6细胞株, 初步观察甘丙肽及其受体在HSC中的表达情况和对其增殖作用的影响, 为甘丙肽与肝纤维化关系研究提供细胞学基础.

1 材料与方法

1.1 材料 ♂, SD大鼠6只, 购自中国科学院上海实验动物中心, 体质量300-350 g, 饲养于新华医院实验动物中心.

链酶蛋白酶(pronase E)、DNA酶Ⅰ、Ⅳ型胶原酶和Nycodenz为Sigma公司产品; 甘丙肽(C141H211N43O41)(产品批号114547-31-8)购自Sigma公司; TRIzol购自Invitrogen公司; PrimeScript RT reagent kit购自TaKaRa宝生物; 山羊抗大鼠GalR2单克隆抗体购自Abcam公司; Dulbecco's Modified Eagle's Medium(DMEM)购自Gibco公司; 胎牛血清购自Gibco公司; 四甲基偶氮唑蓝[3-(3,5-dimethylthazol-2-y)-2,5-diphenyl

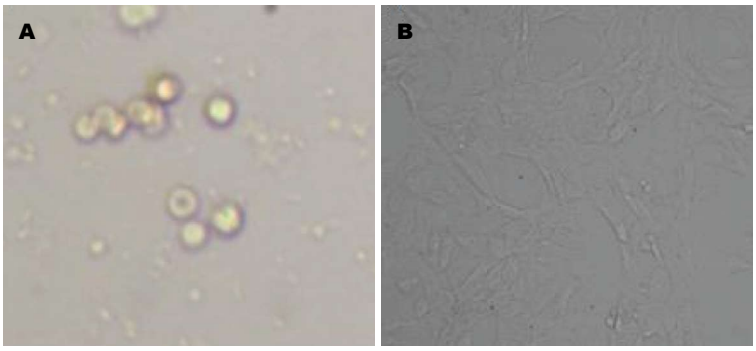


图 1 原代肝星状细胞光镜下形态学变化(×100). A: 新鲜分离原代肝星状细胞形态; B: 培养7 d后肝星状细胞.

■相关报道
甘丙肽及其受体在脂肪性肝病中的表达动态变化, 但其与肝损伤修复的关系目前尚不明确. 除能量代谢平衡调控外, 也发现瘦素与甘丙肽在脂肪细胞中与细胞增殖密切相关, 因此肝星状细胞是否与瘦素一样, 表达甘丙肽受体并产生生物学功能值得探讨.

tetrazolium bromide, MTT]为Sigma公司产品.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: 原代HSC分离与培养HSC分离方式、纯度及活力鉴定参见先前报道[14]. 新分离HSC纯度和细胞活力均>90%. 新分离HSC冻存于液氮或培养于6孔板细胞1 wk后用于抽提总RNA.

1.2.2 RT-PCR检测甘丙肽及其受体表达: 采用TRIzol抽提细胞总RNA, 用Takara公司RT-PCR试剂盒, 参照说明书对总RNA进行扩增. Galanin引物序列: 上游5'-TACCCCTGCCTGAGAG-CAAT-3'; 下游5'-TCTTCTGAGGAGGTGGC-CAA-3', 扩增片段长度为118 bp. GalR1引物序列: 上游5'-TGCTTTTGCTATGCCAAGGTTC-3'; 下游5'-TCGGTTCTTTTCTTTAGCATCGC-3', 扩增片段长度为359 bp. GalR2引物序列: 上游5'-TTCTGCCTCTGTTGGATGCC-3'; 下游5'-TCTACTCGAGGCTGTGCAGTTG-3', 扩增片段长度为362 bp. GalR3引物序列: 上游5'-AGCCAAGCAGTACCACAGAT-3'; 下游5'-GGTGAGGTAGATGAGCAGAT-3', 扩增片段长度为161 bp. 内参GAPDH引物序列: 上游5'-CATGGTCTACACGTIECAGT-3'; 下游 5'-GGCAAGCAGTI'GGTGGTGC-3', 扩增片段长度为366 bp. 退火温度分别为: 61 ℃、61 ℃、58 ℃、62 ℃、58 ℃, 扩增40循环后用1.2%琼脂糖凝胶电泳, 并以Bio-rad成像系统成像.

1.2.3 细胞免疫荧光法检测GalR2表达: 取培养皿中HSC-T6细胞爬片, 4%多聚甲醛固定, 山羊血清封闭后, GalR2一抗(1∶50)4 ℃过夜, 以FITC标记二抗37 ℃孵育2 h, 荧光显微镜成像, 阳性细胞为绿色荧光. 另设不加一抗的平行阴性对照.

1.2.4 MTT法检测甘丙肽及GalR2对HSC-T6细胞增殖的影响: HSC-T6细胞株培养于96孔板细胞(2000个/孔)24 h. 甘丙肽处理组每孔加入甘丙肽工作液至终浓度为0、1、10、100、1000和10000 nmol/L; 甘丙肽抗体组除加入上述浓度甘丙肽外, 另加5 μg/mL的GalR2抗体, 并确保为先加入抗体, 再加入甘丙肽; 对照组加入甘丙肽溶媒PBS. 培养基为10%胎牛血清DMEM, 各组3复孔. 作用24 h后, 向每孔加入MTT原液(质量浓度5g/L)20 μL, 继续孵育4 h后, 小心去除培养基, 然后每空加入二甲基亚砜200 μL, 震荡裂解10 min, 二甲基亚砜空白对照调零, 酶标测试仪测定A值, 测定波长为492 nm, 参考波长为620 nm, $A = A_{492}-A_{620}$. 实验重复3次.

统计学处理 采用SAS6.0统计学软件进行分析, 计量资料用mean±SD表示, 组间比较采用t检验, $P<0.05$为差别有统计学意义.

2 结果

2.1 原代分离培养HSC形态学变化 新分离获得的HSC, 台盼蓝染色显示活细胞约95%, 细胞小而圆(图1A). 培养24 h后, 细胞开始贴壁. 培养7 d时细胞膜状伸展, 活化为肌成纤维母细胞样细胞(图1B).

2.2 甘丙肽及其受体在静止期及活化期HSC中差异表达 RT-PCR结果显示, 在静止期及培养7 d(活化期)HSC中均可检测到甘丙肽及GalR3 mRNA表达, 但均无GalR1表达. 活化HSC中有显著GalR2 mRNA表达, 但并不见于静止期HSC中(图2).

2.3 大鼠HSC-T6细胞株表达GalR2蛋白 免疫荧光细胞化学法结果显示, GalR2在HSC-T6细胞株胞膜及胞浆中呈高表达, 荧光显微镜下可见明显特异性绿色荧光, 而阴性对照组无特异性荧光(图3).

2.4 甘丙肽及GalR2对HSC-T6活力的影响 不同浓度甘丙肽干预HSC-T6 24 h后, 当甘丙肽终浓度为10、100和1000 nmol/L时, A值与空白对照组相比有统计学差异($P<0.05$), 且甘丙肽终浓度为100 nmol/L时, A值降到最低, 其余浓度甘丙肽

■应用要点
抑制甘丙肽2型受体, 将有效提高甘丙肽对活化HSC的增殖抑制效应, 恢复活化HSC对甘丙肽的正常生物学功能. 甘丙肽2型受体抑制剂可能有重要抗肝纤维化作用.

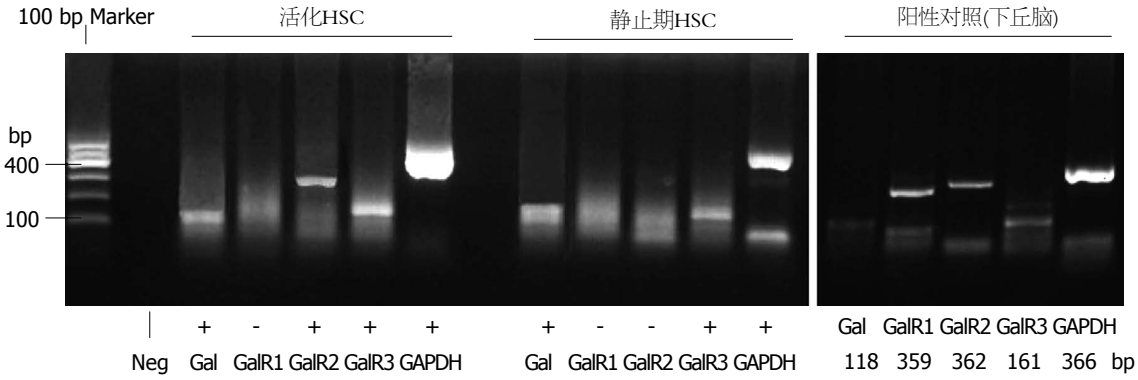


图 2 甘丙肽及其受体在静止期及活动期HSC中表达. Neg: 无核酸水阴性对照; Gal: 甘丙肽; GalR1、2和3: 甘丙肽受体1、2和3型. +: 阳性表达; −: 无表达. HSC: 肝星状细胞.

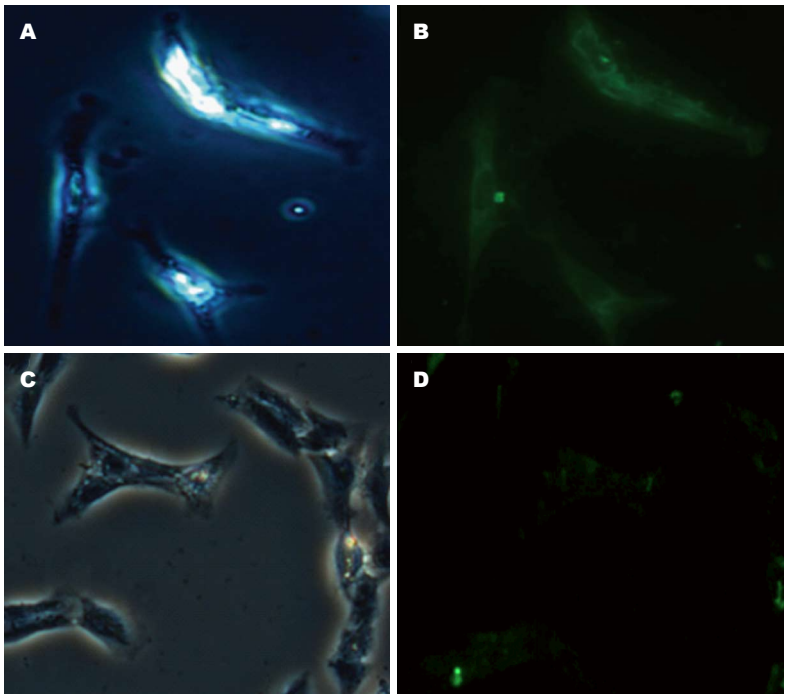


图 3 HSC-T6中GalR2免疫荧光细胞化学染色(×100). A: 抗GalR2抗体组倒置显微镜下HSC-T6形态; B: 抗体组, 荧光显微镜下显示蛋白在HSC-T6中阳性表达(绿色); C: 无一抗阴性对照组, 倒置显微镜下HSC-T6形态; D: 阴性, 无明显阳性表达.

对HSC-T6增殖无明显影响. 与单纯甘丙肽处理组相比, GalR2抗体中和组*A*值明显降低, 在1-10 mmol/L时差别有统计学意义(P<0.05, 图4).

3 讨论

本实验利用原代HSC分离培养和大鼠HSC-T6细胞系, 证实静止期和活化HSC均表达甘丙肽及GalR3受体. 更重要的是, 活化HSC新表达GalR2. 新表达GalR2可能拮抗甘丙肽通过GalR1受体介导的HSC增殖抑制作用. 因此, HSC活化过程中, 可通过改变甘丙肽受体表达类型, 改变甘丙肽对其生物学效应.

虽然在能量代谢上甘丙肽生物学功能与瘦素关系密切, 但是目前甘丙肽与瘦素在肝内生物学功能认识水平差距巨大. 瘦素在肝纤维化进展中起重要作用. 瘦素作用于活化HSC, 可促进HSC增殖并抑制其凋亡[4,5,15]; 瘦素还促进肝内转化生长因子-β1、血小板衍生因生长因子等细胞因子的表达; 减少基质金属蛋白酶1形成和促细胞外基质沉积; 并能上调促炎症因子和促血管因子, 促进肝纤维化进展[4,5,15]. 然而, 甘丙肽在肝内作用的认识目前仅限于其参与糖原等能量代谢调控的交感神经肽功能, 甘丙肽在肝脏多种疾病(脂肪肝、肝纤维化、急性肝损伤等)发生发展过程中作用迄今鲜有报道[16].

为明确甘丙肽及其受体是否直接参与调控肝纤维化发生发展, 首先需要了解甘丙肽受体是否在HSC中表达, 因为HSC活化增殖是肝纤维化发生的中心环节, 而受体表达是甘丙肽作用的物理基础. 本实验利用原代分离的静止

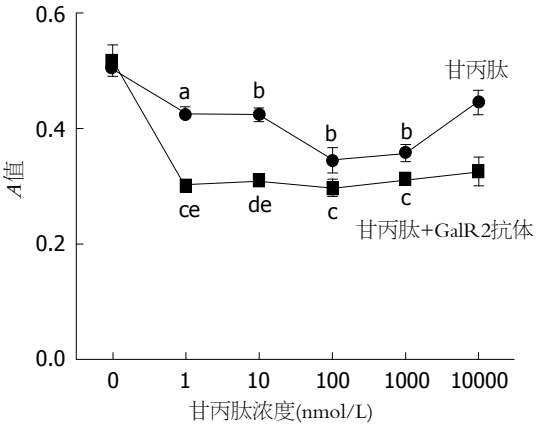


图 4 甘丙肽和GalR2抗体对HSC-T6增殖影响. 单纯甘丙肽组中, [a]P<0.05, [b]P<0.01 *vs* 相应对照组(甘丙肽浓度0); 甘丙肽+GalR2中和抗体组中, GalR2中和抗体浓度均为5 μg/mL, [c]P<0.05, [d]P<0.01 *vs* 相应对照组(甘丙肽浓度0+对照IgG); [e]P<0.05 *vs* 相应浓度的单纯甘丙肽组.

期HSC、体外培养活化HSC和永生化大鼠活化HSC细胞系HSC-T6, 发现甘丙肽及GalR3在静止期和活化HSC中均持续表达, 而GalR2在HSC活化后全新表达. GalR2的表达变化在mRNA和蛋白水平均得到了证实. 我们的发现与Waters等[17]的研究结果相似, 他们在正常肝组织及静止期HSC中检测到GalR3 mRNA的表达; 而我们曾经报道在肝组织中检测到GalR3和甘丙肽表达, 且在脂肪性肝炎阶段才出现GalR2表达[16]. 目前研究未能明确HSC新表达GalR2的分子机制, 我们推测这可能是HSC活化时一系列基因表达改变的一部分, 其意义与功能, 值得深入研究.

甘丙肽不同受体存在生物学功能差异在其他研究中已有报道. 不同甘丙肽受体序列上的差异对于其偶联不同的G蛋白和下游信号系统至关重要. 在神经元细胞中, GalR2不仅可与Gq/11蛋白偶联, 引起细胞内Ca^{2+}浓度升高, 及Cl-依赖的Ca^{2+}通道开放, 也可以与Gi/o蛋白偶联, 抑制腺苷酸环化酶活性[18]; 而GalR3可与Gi/o蛋白偶联, 抑制腺苷酸环化酶而激活与其共表达的内向整流钾通道, 从而对情绪、摄食、代谢和垂体激素释放等生理过程起调节作用[19]. 颈肿瘤细胞中GalR2介导细胞增殖抑制而非GalR1[6]. Tofighi等[9]在嗜铬细胞瘤PC12细胞株中发现, 甘丙肽通过GalR2抑制细胞增殖、介导细胞凋亡, 该机制与Gq/11 G-蛋白转导通路有关. 因此, 在HSC活化增殖过程中, 甘丙肽与其受体结合后可能正是通过Gq/11或Gi/o蛋白信号转导通路, 激活和/或抑制肌醇磷脂转化率, 对某些关键基因进行磷酸化/去磷酸化调控, 发挥其调控HSC增殖的作用.

甘丙肽、GalR2和GalR3在HSC中表达, 为甘丙肽对HSC功能研究提供了坚实的结构基础. 本研究发现实验浓度(10-1000 nmol/L)甘丙肽不同程度抑制HSC-T6增殖, 其中以100和1000 nmol/L作用最为明显. 这种作用是增殖抑制而非甘丙肽细胞毒作用, 因为实验中未发现细胞出现明显的核固缩和悬浮, 且MTT法也证实甘丙肽在100 nmol/L抑制作用达到最大, 而后随着浓度的升高, 抑制作用不但没有加强反而有所降低. GalR2中和抗体抑制GalR2时, 活化HSC中GalR3的被甘丙肽单独激活表现为更加显著的增殖抑制, 即使在低浓度甘丙肽(1 nmol/L)中亦如此. 这提示在HSC活化后, 新表达的GalR2使甘丙肽通过GalR3介导的对HSC的增殖抑制作用显著减弱. 这是活化HSC功能转化的又一重要特征, 其生物学意义尚待更深入研究.

总之, 本实验初步证实甘丙肽及其GalR3存在于HSC中, 且在HSC活化过程中新表达GalR2, 影响HSC对甘丙肽的生物学反应. 新表达GalR2的重要生物学意义需要更深入研究, 特别是其与HSC活化、增殖、抗凋亡和分泌等的关系, 使甘丙肽可能成为预防及治疗肝纤维化的新靶点.

■同行评价
本文探讨了甘丙肽及其受体在大鼠原代HSC中的表达以及对细胞增殖的影响, 具有重要的基础研究意义.

4 参考文献

1 Kocabayoglu P, Friedman SL. Cellular basis of hepatic fibrosis and its role in inflammation and cancer. *Front Biosci* (Schol Ed) 2013; 5: 217-230 [PMID: 23277047]
2 Brenner DA, Kisseleva T, Scholten D, Paik YH, Iwaisako K, Inokuchi S, Schnabl B, Seki E, De Minicis S, Oesterreicher C, Taura K. Origin of myofibroblasts in liver fibrosis. *Fibrogenesis Tissue Repair* 2012; 5 Suppl 1: S17 [PMID: 23259769 DOI: 10.1186/1755-1536-5-S1-S17]
3 Li J, Ghazwani M, Zhang Y, Lu J, Li J, Fan J, Gandhi CR, Li S. miR-122 regulates collagen production via targeting hepatic stellate cells and suppressing P4HA1 expression. *J Hepatol* 2013; 58: 522-528 [PMID: 23178710 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.11.011]
4 Wang J, Leclercq I, Brymora JM, Xu N, Ramezani-Moghadam M, London RM, Brigstock D, George J. Kupffer cells mediate leptin-induced liver fibrosis. *Gastroenterology* 2009; 137: 713-723 [PMID: 19375424 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.04.011]
5 Marra F, Navari N, Vivoli E, Galastri S, Provenzano A. Modulation of liver fibrosis by adipokines. *Dig Dis* 2011; 29: 371-376 [PMID: 21894007 DOI: 10.1159/000329799]
6 Kanazawa T, Misawa K, Carey TE. Galanin receptor subtypes 1 and 2 as therapeutic targets in head and neck squamous cell carcinoma. *Expert Opin Ther Targets* 2010; 14: 289-302 [PMID: 20148716]
7 Poritsanos NJ, Mizuno TM, Lautatzis ME, Vrontakis M. Chronic increase of circulating galanin levels induces obesity and marked alterations in lipid me-

tabolism similar to metabolic syndrome. *Int J Obes* (Lond) 2009; 33: 1381-1389 [PMID: 19773738 DOI: 10.1038/ijo.2009.187]
8 Lang R, Kofler B. The galanin peptide family in inflammation. *Neuropeptides* 2011; 45: 1-8 [PMID: 21087790 DOI: 10.1016/j.npep.2010.10.005]
9 Tofighi R, Joseph B, Xia S, Xu ZQ, Hamberger B, Hökfelt T, Ceccatelli S. Galanin decreases proliferation of PC12 cells and induces apoptosis via its subtype 2 receptor (GalR2). *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 2717-2722 [PMID: 18272487 DOI: 10.1073/pnas.0712300105]
10 Barrachina MD, Martínez V, Wei JY, Taché Y. Leptin-induced decrease in food intake is not associated with changes in gastric emptying in lean mice. *Am J Physiol* 1997; 272: R1007-R1011 [PMID: 9087668]
11 Yuan CS, Dey L, Xie JT, Aung HH. Gastric effects of galanin and its interaction with leptin on brainstem neuronal activity. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 301: 488-493 [PMID: 11961047]
12 Karatayev O, Baylan J, Leibowitz SF. Increased intake of ethanol and dietary fat in galanin overexpressing mice. *Alcohol* 2009; 43: 571-580 [PMID: 20004335 DOI: 10.1016/j.alcohol.2009.09.025]
13 Li RY, Song HD, Shi WJ, Hu SM, Yang YS, Tang JF, Chen MD, Chen JL. Galanin inhibits leptin expression and secretion in rat adipose tissue and 3T3-L1 adipocytes. *J Mol Endocrinol* 2004; 33: 11-19 [PMID: 15291739]
14 Chen YW, Liu BW, Zhang YJ, Chen YW, Dong GF, Ding XD, Xu LM, Pat B, Fan JG, Li DG. Preservation of basal AcSDKP attenuates carbon tetrachloride-induced fibrosis in the rat liver. *J Hepatol* 2010; 53: 528-536 [PMID: 20646773]
15 Yang YY, Huang YT, Tsai TH, Hou MC, Lee FY, Lee SD, Lin HC. Kupffer cell depletion attenuates leptin-mediated methoxamine-stimulated portal perfusion pressure and thromboxane A2 release in a rodent model of NASH-cirrhosis. *Clin Sci* (Lond) 2012; 123: 669-680 [PMID: 22734967 DOI: 10.1042/CS20110572]
16 李郑红, 段晓燕, 陈源文, 徐雷鸣, 丁永年, 范建高. 甘丙肽在高脂饮食诱导脂肪性肝病大鼠循环中动态变化. 胃肠病学和肝病学杂志 2012; 5: 458-461
17 Waters SM, Krause JE. Distribution of galanin-1, -2 and -3 receptor messenger RNAs in central and peripheral rat tissues. *Neuroscience* 2000; 95: 265-271 [PMID: 10619483]
18 Kolakowski LF, O'Neill GP, Howard AD, Broussard SR, Sullivan KA, Feighner SD, Sawzdargo M, Nguyen T, Kargman S, Shiao LL, Hreniuk DL, Tan CP, Evans J, Abramovitz M, Chateauneuf A, Coulombe N, Ng G, Johnson MP, Tharian A, Khoshbouei H, George SR, Smith RG, O'Dowd BF. Molecular characterization and expression of cloned human galanin receptors GALR2 and GALR3. *J Neurochem* 1998; 71: 2239-2251 [PMID: 9832121]
19 Smith KE, Walker MW, Artymyshyn R, Bard J, Borowsky B, Tamm JA, Yao WJ, Vaysse PJ, Branchek TA, Gerald C, Jones KA. Cloned human and rat galanin GALR3 receptors. Pharmacology and activation of G-protein inwardly rectifying K+ channels. *J Biol Chem* 1998; 273: 23321-23326 [PMID: 9722565]

编辑 黄新珍 电编 鲁亚静

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费. 审稿周期及发表周期不变. (《世界华人消化杂志》编辑部)

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2013年5月8日; 21(13): 1211-1217
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

N-乙酰半胱氨酸在减轻大鼠重症急性胰腺炎肠损伤中的作用

牛天平, 王映珍, 曹云华, 王 军, 李自力, 肖 文, 张有成, 王世文

牛天平, 王军, 李自力, 肖文, 甘肃省紧急医疗救援中心 甘肃省兰州市 730030
王映珍, 王世文, 甘肃省第二人民医院重症医学科 甘肃省兰州市 730000
王映珍, 曹云华, 张有成, 兰州大学第二医院普外科 甘肃省兰州市 730030
牛天平, 主要从事内科急危重症的临床及科研工作.
甘肃省卫生行业科研计划管理基金资助项目, No. GWGL2010-14
作者贡献分布: 此课题由张有成、王世文及王军指导; 王映珍与牛天平设计; 研究过程由王映珍、曹云华、李自力及肖文完成; 研究经费由甘肃省紧急医疗救援中心提供; 数据分析与论文写作由王映珍完成.
通讯作者: 王映珍, 副主任医师, 730030, 甘肃省兰州市城关区和政西街1号, 甘肃省第二人民医院重症医学科. yingzhen-wang@hotmail.com
电话: 0931-8487315
收稿日期: 2013-02-04 修回日期: 2013-03-25
接受日期: 2013-04-12 在线出版日期: 2013-05-08

N-acetylcysteine ameliorates severe acute pancreatitis-associated intestinal injury in rats

Tian-Ping Niu, Ying-Zhen Wang, Yun-Hua Cao, Jun Wang, Zi-Li Li, Wen Xiao, You-Cheng Zhang, Shi-Wen Wang

Tian-Ping Niu, Jun Wang, Zi-Li Li, Wen Xiao, Emergency Medical Rescue Center of Gansu Province, Lanzhou 730030, Gansu Province, China
Ying-Zhen Wang, Shi-Wen Wang, Second People's Hospital of Gansu Province, Lanzhou 730030, Gansu Province, China
Ying-Zhen Wang, Yun-Hua Cao, You-Cheng Zhang, Lanzhou University Second Hospital, Lanzhou 730030, Gansu Province, China
Supported by: the Research Plan Management Project of Health Department of Gansu Province in 2010, No. GWGL2010-14
Correspondence to: Ying-Zhen Wang, Associate Chief Physician, Second People's Hospital of Gansu Province, 1 Hezheng West Street, Chengguan District, Lanzhou 730030, Gansu Province, China. yingzhenwang@hotmail.com
Received: 2013-02-04 Revised: 2013-03-25
Accepted: 2013-04-12 Published online: 2013-05-08

Abstract

AIM: To investigate the effects of treatment with n-acetylcysteine (NAC) on plasma levels of tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukin-1β (IL-1β) and IL-10 and ICAM1 expression in small intestine tissue in rats with severe acute pancreatitis (SAP) and to explore the possible mechanisms involved.

METHODS: Seventy Wistar rats were randomly divided into a sham operation group (SO, n = 24), a SAP group (n = 24) and a NAC treatment group (n = 24). SAP was induced in rats by injecting 5.0% sodium taurocholate into the biliary-pancreatic duct. Rats in the SO group were given an infusion of normal saline instead. Rats in the NAC group underwent SAP induction and were given an intraperitoneal injection of NAC 1 hour before the operation, and rats in the SO group and SAP group were given an intraperitoneal injection of normal saline. Eight rats were sacrificed 6, 12 or 24 h after operation in each group. Plasma levels of amylase (AMY), endotoxin, diamine oxidase (DAO), D-lactic acid, TNF-α, IL-1β and IL-10 were measured. Pathologic changes in the small intestine were observed and scored. ICAM1 mRNA and protein expression in the small intestine was tested by real-time PCR and Western blot, respectively.

RESULTS: Compared to the SAP group, plasma levels of AMY, TNF-α and IL-β were significantly lower at all three time points (all $P < 0.05$) and serum levels of endotoxin, DAO and D- lactic acid were significantly lower at 12 and 24 h (both $P < 0.05$) in the NAC group. Serum levels of IL-10 in the NAC group were increased compared to the SAP group at all three time points. The pathology score of the small intestinal was significantly lower in the NAC group than the SAP group at 12 and 24 h. Although the mRNA expression of ICAM1 was increased at each time point in the SAP group compared with the SO group, it was significantly decreased in the NAC group compared with the SAP group (6 h: 1.13 ± 0.28 *vs* 2.37 ± 0.63; 12 h: 1.27 ± 0.34 *vs* 2.94 ± 0.82; 24 h: 1.19 ± 0.26 *vs* 2.68 ± 0.95; all $P < 0.05$). The protein expression of ICAM1 had the same trend as the mRNA expression between the NAC and SAP groups (6 h: 0.74 ± 0.11 *vs* 1.04 ± 0.25; 12 h: 0.88 ± 0.17 *vs* 1.25 ± 0.33; 24 h: 0.75 ± 0.13 *vs* 1.18 ± 0.22; all $P < 0.05$).

■背景资料
肠道是重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)患者最易发生损害的脏器之一, 而由此导致的肠屏障功能障碍是重症急性胰腺炎患者发生细菌移位、内毒素血症和多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome)的始动因素, 因此寻求有效的治疗措施, 早期保护肠屏障功能对SAP的防治具有重要作用.

■同行评议者
巩鹏, 教授, 大连医科大学附属第一医院普外二科; 郭晓钟, 教授, 沈阳军区总医院消化内科; 陈海龙, 教授, 大连医科大学附属第一医院院办

■研发前沿
本文通过建立大鼠SAP模型并应用N-乙酰半胱氨酸(N-acetylcysteine, NAC)进行早期干预, 观察NAC对SAP大鼠血浆肿瘤坏死因子α(tumor necrosis factor α, TNF-α)、白细胞介素1β(interleukin-1β, IL-1β)、IL-10水平及小肠组织细胞间黏附分子1表达的影响, 以进一步探讨其对SAP时肠损伤的影响以及可能机制.

CONCLUSION: Administration of NAC ameliorates severe acute pancreatitis-associated intestinal injury in rats possibly by regulating plasma levels of TNF-α, IL-1β and IL-10 and inhibiting ICAM1 expression in the small intestine.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: N-acetylcysteine; Severe acute pancreatitis; Intestinal injury; Intercellular adhesion molecules 1; Tumor necrosis factor-alpha; Interleukin-1beta; Interleukin-10

Niu TP, Wang YZ, Cao YH, Wang J, Li ZL, Xiao W, Zhang YC, Wang SW. N-acetylcysteine ameliorates severe acute pancreatitis-associated intestinal injury in rats. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(13): 1211-1217 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1211.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i13.1211

摘要

目的: 观察N-乙酰半胱氨酸(N-acetylcysteine, NAC)对重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)大鼠血浆肿瘤坏死因子α(tumor necrosis factor α, TNF-α)、白细胞介素1β(interleukin-1β, IL-1β)、IL-10及小肠组织细胞间黏附分子1(intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM1)表达的影响, 并探讨其对大鼠SAP相关肠损伤保护作用的机制.

方法: 72只Wistar大鼠随机分为假手术组(SO组)、SAP组及NAC干预组(NAC组). 每组再分为6、12、24 h共3个时相点, 每个时相点各8只大鼠. 通过胰胆管逆行注射5%牛磺胆酸钠制作大鼠SAP模型, SO组用同样方法经胰胆管逆行注射生理盐水, NAC组大鼠在制作SAP模型前1 h经腹腔注射NAC, SO组及SAP组在术前1 h经腹腔注射同NAC等体积的生理盐水. 动物分别于术后6、12、24 h麻醉后取材, 检测血浆淀粉酶(plasma amylase, AMY)、内毒素、D-乳酸, 二胺氧化酶(diamine oxidase, DAO)、TNF-α、IL-1β及IL-10含量, 观察小肠组织病理学变化并进行评分, 实时荧光定量PCR(Real-time PCR)检测小肠组织ICAM1 mRNA的表达, Western blot法检测小肠组织ICAM1蛋白变化.

结果: NAC组各时相点大鼠AMY、TNF-α及IL-β水平均较SAP组各对应时相点降低, IL-10水平则明显增高, 内毒素、DAO和D-乳酸在12和24 h时也明显降低; SO组大鼠小肠组织无明显病理学改变, NAC组大鼠小肠病理改变较SAP组明显改善, 小肠组织病理学评分在12及24 h亦明显降低. NAC组大鼠小肠组织中ICAM1 mRNA(6 h: 1.13±0.28 *vs* 2.37±0.63; 12 h: 1.27±0.34 *vs* 2.94±0.82; 24 h: 1.19±0.26 *vs* 2.68±0.95, 均$P<0.05$)及蛋白(6 h: 0.74±0.11 *vs* 1.04±0.25; 12 h: 0.88±0.17 *vs* 1.25± 0.33; 24 h: 0.75±0.13 *vs* 1.18±0.22, 均$P<0.05$)的表达与SAP组相应时相点比较均明显减弱.

结论: NAC可以减轻SAP大鼠肠损伤, 其机制除其可以抑制TNF-α、IL-1β并促进IL-10的释放外, 还可能与其对小肠组织ICAM1表达的调节作用有关.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: N-乙酰半胱氨酸; 重症急性胰腺炎; 肠损伤; 细胞间黏附分子1; 肿瘤坏死因子-α; 白细胞介素-1β; 白细胞介素10

核心提示: 抗氧化剂N-乙酰半胱氨酸(N-acetylcysteine)可以减轻大鼠重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis)相关肠损伤, 其机制除可以调节促炎及抗炎因子的平衡外, 对小肠组织中细胞间黏附分子1(intercellular cell adhesion molecule-1)表达的调节亦发挥一定的作用.

牛天平, 王映珍, 曹云华, 王军, 李自力, 肖文, 张有成, 王世文. N-乙酰半胱氨酸在减轻大鼠重症急性胰腺炎肠损伤中的作用. 世界华人消化杂志 2013; 21(13): 1211-1217 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1211.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i13.1211

0 引言

重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)约占急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)的10%-15%, 死亡率可高达20%-30%[1,2], 而多器官功能障碍(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)和感染是SAP相关死亡的主要原因[3]. SAP时众多因素导致的肠屏障功能障碍(intestine barrier functional disturbance, IBFD)是发生细菌移位、内毒素血症和MODS的始动因素[4,5], 因此早期保护肠屏障功能对SAP的防治具有重要作用[6]. N-乙酰半胱氨酸(N-acetylcysteine, NAC)是一种含有巯基的抗氧化剂, 实验研究表明, NAC具有抗氧自由基、稳定细胞膜、抑制炎症反应等广泛的生物学作用和活性[7-11]. 本研究通过建立大鼠SAP模型并应用NAC进行干预, 观察NAC对SAP大鼠血浆肿瘤坏死因子α(tumor necrosis factor α, TNF-α)、白细胞介素1β(interleukin-1β, IL-1β)、IL-10水平及小肠组织细胞间黏附分子1(intercel-

lular cell adhesion molecule-1, ICAM1)表达的影响, 以进一步探讨其对大鼠SAP相关肠损伤保护作用的分子机制.

1 材料和方法

1.1 材料 Wistar大鼠由兰州大学医学实验动物中心提供. 动物术前禁食12 h, 自由饮水. NAC及牛磺胆酸钠购自Sigma公司; 内毒素(endotoxin)测定试剂盒购自厦门鲎试剂实验厂有限公司; TNF-α、IL-β及IL-10 ELISA试剂盒均购自北京达科为生物技术有限公司; RNAiso Plus及实时荧光定量PCR(real-time PCR)相关试剂购自大连宝生物公司; ICAM1引物由大连宝生物公司合成; ICAM1多克隆兔抗鼠抗体、β-actin兔抗鼠抗体及辣根过氧化物酶标记的羊抗兔二抗Ig G购自北京博奥森.

1.2 方法

1.2.1 实验分组: 72只健康Wistar大鼠, SPF级, 体质量200-220 g, 雌雄不限, 随机分为SO组、SAP组、NAC组, 每组再分为3个时相点(6、12、24 h), 每个时相点8只大鼠.

1.2.2 动物模型的制备: 2%戊巴比妥钠溶液(0.25 mL/100 g体质量)腹腔内注射麻醉后, 大鼠平卧位固定, 常规备皮、消毒铺巾. 上腹部正中切口进腹, 仔细辨认十二指肠管壁内侧潜行的十二指肠乳头后, 用5号注射针头于十二指肠乳头对侧缘无血管区肠壁刺一小孔, 用特制细塑硅胶管经小孔进入十二指肠肠腔后, 沿十二指肠乳头方向插入胰胆管, 以2枚血管夹分别夹持贴近十二指肠的胰胆管远段和肝门处胆总管后, 导管末端连接输液转换器, SAP组和NAC组以0.2 mL/min的速度向胰胆管内逆行注入5%牛磺胆酸钠溶液, SO组用生理盐水代替牛磺胆酸钠溶液, 剂量均为0.10 mL/100 g体质量. 注射完毕后, 停留5 min, 移去显微血管夹和细塑硅胶管, 缝合十二指肠外侧壁小孔, 观察SAP组和NAC组大鼠胰腺出现水肿伴出血灶后, 用消毒棉球吸干腹腔内残留麻药, 缝合腹壁各层. NAC组于术前1小时经腹腔注射NAC溶液500 μg/kg(浓度50 μg/mL, pH = 7.3), 即10 mL/kg, 而SO组及SAP组则于相同时间点经上述途径注射生理盐水10 mL/kg. 大鼠术后禁食, 自由饮水.

1.2.3 标本采集及预处理: 各组动物于相应时相点麻醉后无菌条件下取右心室血5 mL加入灭热源的肝素抗凝管, 分离血浆后保存于-80 ℃待检. 取距回盲部2 cm处回肠组织长约5 cm, 置于冰冷的生理盐水中, 沿纵轴剪开肠管, 冲洗干净肠内容物, 用滤纸吸干水后, 部分用10%中性甲醛固定做病理形态学检查, 其余装入用DEPC处理过的冻存管后即刻投入液氮内保存待检.

1.2.4 指标检测: (1)血浆淀粉酶检测, 用全自动生化分析仪测定; (2)血浆TNF-α、IL-β及IL-10检测: 采用双抗夹心ELISA法, 严格按照说明书操作, 用酶标仪测定*A*值后, 以标准品的浓度和*A*值绘制标准曲线, 从标准曲线计算样品对应浓度, 单位均为pg/mL; (3)血浆内毒素、DAO及D-乳酸检测: 改良的鲎试剂凝胶法测定血浆内毒素含量, 单位为ng/L; 分光光度法测定血浆DAO及D-乳酸含量, 单位分别为U/mL和μg/mL; (4)小肠组织病理形态学观察及评分: 小肠组织石蜡切片行苏木素-伊红染色(HE染色), 由两名病理医师盲法采用Chiu氏6级评分法[12]评估损伤程度并评分, 取其平均值; (5)Real-time PCR法检测小肠组织ICAM1 mRNA的表达: 称取80-100 mg超低温冻结的小肠组织样品, 用RNAiso Plus提取总RNA并测定浓度, 取总量500 ng RNA进行反转录, 体系为10 μL, 反转录反应条件如下: 37 ℃ 15 min, 85 ℃ 5 s. 采取Real-time PCR扩增ICAM1 mRNA, 反应体系为25 mL, 反应条件如下: 95 ℃变性30 s; 95 ℃变性5 s, 60 ℃退火30 s, 共40个循环; 72 ℃延伸5 min. ICAM1引物: 上游引物5'-GGCGTCCATTTACACCTATTA-3', 下游引物5'-TTCCTTTTCTTCTCTTGCTTG-3'(413 bp); β-actin引物: 上游引物5'-GCAAGTACTCTGTGTGGATTGG-3', 下游引物5'-AATCAAAGTCCTCAGCCACATT-3'(395 bp), 实验重复3次, 选用β-actin作为内参. 用Rotor-Gene 6000荧光定量PCR仪自带软件进行数据分析, 采用比较CT值法($2^{-\Delta\Delta Ct}$法)进行PCR相对定量; (6)Western blot检测小肠组织ICAM1蛋白表达: 取50-100 mg冰冻小肠组织用预冷的PBS洗涤2次, 离心弃去PBS, 置于玻璃匀浆器中剪成碎块, 加入0.5-1.0 mL预冷的蛋白裂解液, 用玻璃匀浆器充分匀浆后12000 *g*、4 ℃离心30 min, 将上清转移到新的离心管中, 取适量上清用BCA蛋白浓度试剂盒进行定量, 剩余溶液溶于5×loading buffer后95 ℃变性15 min, 取总量40 μg蛋白, 用5%浓缩胶、15%分离胶进行电泳, 恒流20 mA下待溴酚蓝进入分离胶时改为恒流30 mA继续电泳, 直到溴酚蓝移至胶底时终止电泳. 根据预染Maker指示, 恒压100 V、60 min将相应蛋白转移至PVDF膜上, 转膜结束后将PVDF膜立即移

■相关报道

国内外关于NAC在急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)中的研究主要是从他通过清除氧自由基、抑制NF-κB的激活、抑制MAPK的活性、降低腺细胞内钙离子浓度及减少细胞因子的合成和释放, 从而阻断胰腺炎的发生发展, 对AP具有重要的治疗保护作用等方面, 另外NAC对肠缺血再灌注、炎症性肠病、烧伤、感染及放化疗损伤等多种疾病导致的肠屏障功能障碍亦具有一定的防治作用.

■创新盘点
早期予以NAC对大鼠重症急性胰腺炎相关肠损伤具有一定的保护作用，其机制除与NAC可降低血浆促炎细胞因子TNF-α、IL-1β的水平，同时增加抗炎细胞因子IL-10的作用外，还与其对小肠组织细胞间黏附分子1的调节有关.

表 1 各组大鼠血浆淀粉酶及小肠组织病理学评分情况 (n = 8, mean ± SD)

分组	淀粉酶(U/L)			肠组织病理学评分		
	6 h	12 h	24 h	6 h	12 h	24 h
SO组	1562.38 ± 760.19	1572.50 ± 635.90	1322.75 ± 334.64	0.63 ± 0.23	0.75 ± 0.26	0.68 ± 0.29
SAP组	3467.16 ± 534.29[b]	4578.33 ± 614.09[b]	4100.80 ± 280.97[b]	2.38 ± 1.06[a]	2.88 ± 0.99[a]	2.75 ± 0.71[b]
NAC组	3063.38 ± 676.33	2477.00 ± 262.25[d]	2336.38 ± 279.92[d]	1.63 ± 0.52	1.08 ± 0.52[d]	1.25 ± 0.46[c]

[a]P<0.05, [b]P<0.01 *vs* SO组相应时间点; [c]P<0.05, [d]P<0.01 *vs* SAP组相应时间点.

表 2 各组大鼠血浆内毒素、DAO及D-乳酸检测结果 (n = 8, mean ± SD)

分组	内毒素(ng/L)			DAO(U/mL)			D-乳酸(mg/L)		
	6 h	12 h	24 h	6 h	12 h	24 h	6 h	12 h	24 h
SO组	41.0 ± 6.2	39.1 ± 7.3	35.2 ± 6.3	0.41 ± 0.11	0.43 ± 0.15	0.34 ± 0.16	4.09 ± 1.76	3.53 ± 0.93	3.74 ± 1.02
SAP组	137.5 ± 19.0[b]	168.6 ± 20.6[b]	173.4 ± 21.1[b]	0.99 ± 0.50[a]	1.94 ± 0.42[b]	2.81 ± 0.80[b]	9.74 ± 1.96[b]	11.73 ± 2.71[b]	15.39 ± 3.05[b]
NAC组	127.5 ± 12.4[b]	142.5 ± 13.3[bc]	128.7 ± 15.2[bd]	1.44 ± 0.49[b]	1.32 ± 0.31[bc]	1.26 ± 0.24[bd]	7.36 ± 1.48[b]	8.23 ± 2.98[bc]	10.24 ± 1.65[bd]

[a]P<0.05, [b]P<0.01 *vs* SO组相应时间点; [c]P<0.05, [d]P<0.01 *vs* SAP组相应时间点.

至5%脱脂牛奶封闭液中，室温下摇床上摇动封闭2 h. 然后将封闭好的膜放入溶有兔抗鼠一抗(ICAM1 1∶500; β-actin 1∶1000)的新鲜配制的TBST中，室温下摇床上摇动1 h后4 ℃孵育过夜. 第2天取出置于摇床上室温下摇动1 h，TBST洗涤8 min×5次后，置于封闭液稀释的辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔二抗(IgG 1∶10000)中，室温下摇床上摇动2 h，TBST洗涤8 min×5次. ECL显色后在暗室内曝光，显影定影，自来水冲洗晾干后胶片用扫描仪扫描成像，用Quantity-One软件测定灰度值，目的蛋白与β-actin灰度值的比值为目的蛋白的相对表达量.

统计学处理 计量资料以mean±SD表示，采用SPSS13.0进行统计学处理，组间差异比较采用方差分析，多重比较采用SNK法或LSD法，以P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 血浆淀粉酶(amylase, AMY) 结果示SAP组各时相点大鼠血浆AMY与SO组各相应时相点相比均显著升高(均P<0.05); NAC组6 h大鼠血浆AMY与SAP组相比虽然有所降低，但差异无统计学意义(P>0.05)，而12和24 h时均明显降低，差异有统计学意义(均P<0.05)，尤以12 h最为显(P<0.01，表1).

2.2 小肠组织损伤病理评分 小肠组织HE染色示SO组无明显病理改变; SAP组大鼠6 h即有小肠壁充血、水肿、伴少量炎症细胞浸润，少部分绒毛融合、脱落、缺损，此后上述改变逐渐加重，尤以24 h更明显; NAC组大鼠上述病理变化与SAP组相应时相点相比均明显减轻. SAP组大鼠小肠组织病理学评分较SO组各相应时相点均明显增高(P<0.05)，而NAC组则较SAP组各相应时相点明显降低，差异均有统计学意义(P<0.05，表1).

2.3 血浆内毒素 SAP组大鼠血浆内毒素浓度与SO组各相应时相点相比均明显增高(均P<0.01). 而NAC组大鼠血浆内毒素浓度在6 h虽较SAP组相应时相点为低，但差异无统计学意义(P>0.05)，12及24 h与SAP组相应时相点相比则明显下降，差异有统计学意义(P<0.05，表2).

2.4 血浆DAO水平变化 SAP组大鼠血浆DAO浓度与SO组各相应时相点相比均增高，差异有统计学意义(P<0.05)，尤以12和24 h为显(P<0.01). NAC组大鼠在6 h与SAP组相应时相点相比仍处于较高水平，但12和24 h与SAP组相应时相点相比则明显下降，尤以24 h为显(P<0.01，表2).

2.5 血浆D-乳酸水平变化 SAP组大鼠血浆D-乳酸水平与SO组各对应时相点相比均明显升高，差异有统计学意义(P<0.01); NAC治疗组与SAP组各相应时相点比，6 h虽有所降低，但差异无统

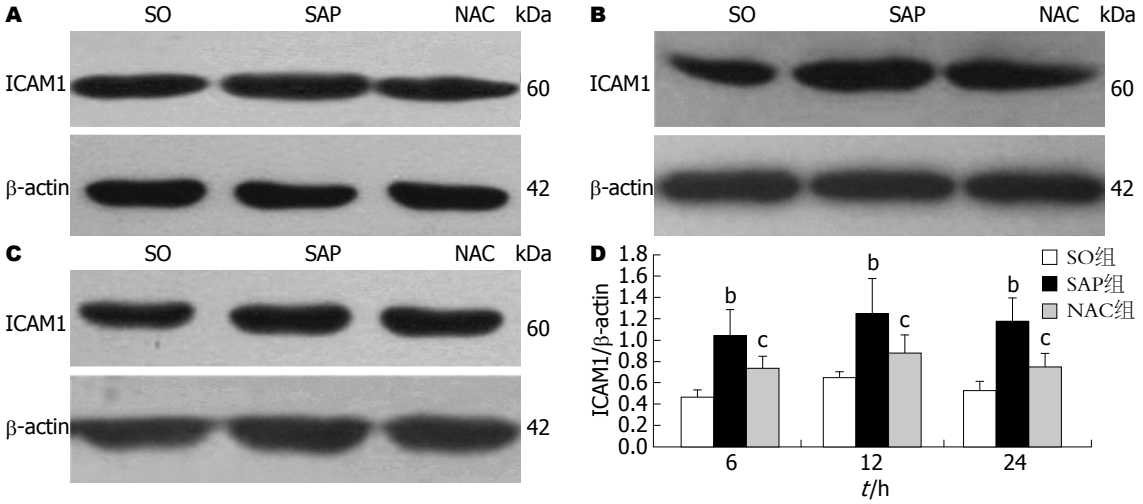


图 1 NAC对各组大鼠小肠组织ICAM1蛋白表达的影响. A, B, C: 6、12、24 h各组大鼠小肠组织ICAM1蛋白Western blot分析典型图; D: 各组大鼠不同时相点小肠组织ICAM1蛋白的相对表达量. [b]*P*<0.01 *vs* SO组相应时间点; [c]*P*<0.05 *vs* SAP组相应时间点.

表 3 各组大鼠血浆TNF-α、IL-β及IL-10检测结果 (*n* = 8, mean ± SD)

分组	TNF-α(pg/mL)			IL-β(pg/mL)			IL-10(pg/mL)		
	6 h	12 h	24 h	6 h	12 h	24 h	6 h	12 h	24 h
SO组	42.9 ± 9.6	36.4 ± 8.9	42.1 ± 10.3	36.5 ± 9.6	40.1 ± 10.7	42.6 ± 8.8	79.6 ± 14.9	74.3 ± 10.6	80.5 ± 15.8
SAP组	106.1 ± 26.8[b]	127.4 ± 29.1[b]	121.6 ± 25.3[b]	96.4 ± 19.6[b]	101.8 ± 20.1[b]	106.3 ± 22.4[b]	46.1 ± 7.8[a]	40.3 ± 6.4[a]	42.9 ± 7.5[a]
NAC组	65.3 ± 13.2[ac]	75.2 ± 16.9[ac]	70.7 ± 11.8[ac]	63.2 ± 15.9[ac]	70.1 ± 16.4[ac]	79.8 ± 18.1[bd]	56.8 ± 11.2[a]	57.7 ± 9.6[ac]	62.6 ± 12.1[ac]

[a]*P*<0.05, [b]*P*<0.01 *vs* SO组相应时间点; [c]*P*<0.05, [d]*P*<0.01 *vs* SAP组相应时间点.

计学意义; 12和24 h时则均明显下降(*P*<0.05), 尤以24 h最为显著(*P*<0.01, 表2).

2.6 血浆TNF-α、IL-β及IL-10水平变化 标准曲线拟合度分别为0.9987, 0.9925和0.9936. SAP组大鼠血浆TNF-α水平均明显高于SO组各相应时相点, 12 h达高峰, 而NAC组与SAP组各相应时相点相比均明显下降, 差异均有统计学意义(*P*<0.05). SAP组大鼠血浆IL-β水平均明显高于SO组各相应时相点, 24 h仍处于较高水平, NAC干预后各时相点均明显下降, 差异有统计学意义(*P*<0.05). SAP组大鼠血浆IL-10水平与SO组各对应时相点相比均降低, 但NAC组与SAP组各对应时相点相比均增高, 差异有统计学意义(*P*<0.05, 表3).

2.7 小肠组织中ICAM1 mRNA的表达 Real-time PCR结果显示, SAP组大鼠ICAM1 mRNA的表达明显高于SO组各相应时相点(6 h: 2.37±0.63 *vs* 1; 12 h: 2.94±0.82 *vs* 1; 24 h: 2.68±0.95 *vs* 1)(均*P*<0.01), 12 h即达高峰; NAC组大鼠与SAP组各相应时相点相比则明显下降(6 h: 1.13±0.28 *vs* 2.37±0.63; 12 h: 1.27± 0.34 *vs* 2.94±0.82; 24 h: 1.19±0.26 *vs* 2.68±0.95), 差异均有统计学意义(*P*<0.05).

2.8 小肠组织中ICAM1蛋白的表达 Western blot结果显示, 与SO组各相应时相点相比较, ICAM1蛋白的表达在SAP组大鼠均明显增高(*P*<0.01), 尤以12 h最为显著; 而在NAC组与SAP各相应时相点相比则明显下降, 差异均有统计学意义(*P*<0.05, 图1).

3 讨论

大量研究证实, 肠黏膜损伤、肠屏障功能损害引起的细菌及内毒素移位是导致SAP患者发生继发感染、全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)、MODS及死亡率居高不下的重要原因[3]. 而肠道血流减少和缺血再灌注损伤、内皮完整性破坏、肠道

■应用要点
NAC可以减轻大鼠SAP相关肠损伤的分子机制, 以期为SAP相关肠损伤的治疗寻找一条新途径, 为临床上SAP的综合治疗提供实验依据和新思路.

■同行评价
本文对抗氧化剂NAC在大鼠SAP相关肠损伤中保护作用的机制进行了探讨, 拓展了NAC的作用, 另外对临床上应该早期重视肠道屏障功能的防护具有一定的提示作用.

微生态改变、自身抵抗力下降及肠黏膜免疫受损、肠动力异常、肠上皮细胞凋亡、胃肠运动及分泌机能障碍、氧化应激以及SIRS与代偿性抗炎反应综合征(compensatory anti-inflammatory response syndrome, CARS)的平衡失调等因素均参与了SAP时IBFD的发生[3,4]. 肠屏障功能一旦受损, 肠道细菌及内毒素可以通过肠壁进入外周血循环, 因此血浆内毒素水平可以作为肠屏障受损的敏感指标; DAO是人类和所有哺乳动物肠黏膜上层绒毛细胞胞浆中有高度活性的细胞酶, 在外周血中活性稳定, 他的变化可以反映肠黏膜屏障的完整性和损伤程度; D-乳酸是细菌发酵的代谢产物, 肠道多种细菌均可产生, 正常情况下很少被吸收, 当肠黏膜通透性增加时, 大量D-乳酸即通过受损黏膜入血, 使血浆D -乳酸水平升高, 因此监测他们在血液中的水平及变化可反映肠屏障损害程度和通透性变化[13,14].

NAC是天然氨基酸*L*-半胱氨酸与还原型谷胱甘肽(glutathione, GSH)的前体, 是一种含有巯基的抗氧化剂. 近年研究表明NAC具有干扰自由基生成, 清除自由基, 调节细胞的代谢活性、抗细胞凋亡、抑制炎症反应等多种生物学功能及活性[9,11,15-17]. 在NAC对AP作用的研究中发现, NAC可以通过清除氧自由基、抑制核因子-κB(nuclear factor-κB, NF-κB)的激活、抑制MAPK的活性、降低腺细胞内钙离子浓度及减少细胞因子的合成和释放等作用从而可以阻断AP的发生发展[18], 另外NAC对肠缺血再灌注、炎症性肠病、烧伤、感染及放化疗损伤等多种疾病导致的IBFD亦具有一定的防治作用[16,17].

我们研究发现, SAP组大鼠血浆AMY水平较SO组相应时相点明显增高, 反映肠屏障功能的指标内毒素、D-乳酸及二胺氧化酶亦明显增高; SAP组各时相点大鼠小肠组织病理评分亦明显高于SO组, 小肠病理学检查均可见特征性病理改变, 这说明SAP早期即存在肠屏障功能的改变. NAC组大鼠血浆AMY水平、小肠病理评分均较SAP组各对应时相点明显降低, 小肠病理改变亦明显改善, 这说明NAC对SAP所致肠损伤具有一定的保护作用, 这与NAC对其他原因导致的IBFD均具有较好的防治作用的研究结果相一致.

SAP时过度释放的炎症介质是发生IBFD的主要原因, 促炎因子如TNF-α、血小板活化因子、IL-1β、IL-6、IL-8等的释放促进了全身炎性反应, 这种过度的炎性反应引起抗炎物质释放增多, 而这一过程可导致免疫抑制, 他们共同参与了IBFD的发生[4,5,19,20]. 本研究发现, SAP时血浆TNF-α和IL-1β的水平均较SO组明显增高, 而NAC干预后均可使其降低; 另外血浆IL-10的水平在SAP各时相点大鼠均低于SO组, 但在NAC组则明显增高, 这说明NAC对SAP时肠损伤的保护作用至少部分是与其对促炎细胞因子TNF-α、IL-1β及抗炎细胞因子IL-10的调节相关的, 在维持SIRS/CARS的平衡中发挥了一定的作用.

黏附分子是存在于细胞表面的一类具有复杂功能的糖蛋白, 介导细胞与细胞、细胞与细胞外基质相互识别、相互黏着及信号传递, 在免疫及炎症反应等生理、病理过程中起重要作用[21]. 生理情况下, 大多数组织不表达或仅低水平表达ICAM1, 炎症反应时ICAM1水平上调且能促进中性粒细胞介导的细胞毒作用. SAP时肠黏膜内皮细胞ICAM1的表达可与白细胞表达的*L*-选择蛋白相互作用, 从而促进了中性粒细胞的边集效应, 并且中性粒细胞通过与整合素受体和配体ICAM-1的相互作用迅速黏附到内皮细胞, 导致肠黏膜损伤的发生[4]. 本研究发现SAP时大鼠小肠组织中ICAM1 mRNA和蛋白的表达与SO组相应时相点比较均明显增强; 而经NAC干预后其表达与SAP各对应时相点相比均明显减弱. 这提示NAC可能通过对小肠组织ICAM1的表达的调控, 从而抑制SAP导致的中性粒细胞黏附、游走和聚集, 并减轻由于补体及中性粒细胞激活所介导的细胞毒性作用, 避免肠黏膜内皮细胞受损, 而对SAP所致的肠损伤具有一定的保护作用.

总之, 本研究表明, NAC能够降低SAP大鼠内毒素血症的发生, 对SAP相关肠损伤有一定的保护作用, 其机制除与NAC可降低血浆促炎细胞因子TNF-α、IL-1β的水平, 同时增加抗炎细胞因子IL-10的作用外, 还可能与其对小肠组织ICAM1表达的调节作用有关.

4 参考文献

1 孙备, 董承刚, 王刚, 姜洪池, 孟庆辉, 李军. 重症急性胰腺炎死亡的高危因素分析. 中华外科杂志 2007; 45: 1619-1622
2 急性胰腺炎协作组. 中国6223例急性胰腺炎病因及病死率分析. 胰腺病学 2006; 6: 321-325
3 Jha RK, Ma Q, Lei Z, Sha H. Resveratrol ameliorates the deleterious effect of severe acute pancreatitis. *Cell Biochem Biophys* 2012; 62: 397-402 [PMID: 22042732 DOI: 10.1007/s12013-011-9313-2]
4 Zhang XP, Zhang J, Song QL, Chen HQ. Mechanism of acute pancreatitis complicated with injury

of intestinal mucosa barrier. *J Zhejiang Univ Sci B* 2007; 8: 888-895 [PMID: 18257123]
5 韩德五. 肠源性内毒素血症在胰腺炎发病中的作用. 世界华人消化杂志 2006; 14: 2825-2829
6 王映珍, 王世文, 李培杰, 党登峰, 孙志江, 王先坤, 徐庆杰. 胰岛素样生长因子-Ⅰ对重症急性胰腺炎大鼠小肠黏膜上皮细胞bax和bcl-2 mRNA表达的影响. 世界华人消化杂志 2008; 16: 1396-1401
7 Werner J, Hartwig W, Hackert T, Kaiser H, Schmidt J, Gebhard MM, Büchler MW, Klar E. Multidrug strategies are effective in the treatment of severe experimental pancreatitis. *Surgery* 2012; 151: 372-381 [PMID: 21982067 DOI: 10.1016/j.surg.2011.07.041]
8 Oz S, Okay E, Karadenizli A, Cekmen MB, Ozdogan HK. N-acetylcysteine improves intestinal barrier in partially hepatectomized rats. *ANZ J Surg* 2007; 77: 173-176 [PMID: 17305994]
9 Johnson ST, Bigam DL, Emara M, Slack G, Jewell LD, Obaid L, Korbutt G, Van Aerde J, Cheung PY. Effects of N-acetylcysteine on intestinal reoxygenation injury in hypoxic newborn piglets resuscitated with 100% oxygen. *Neonatology* 2009; 96: 162-170 [PMID: 19332996 DOI: 10.1159/000210089]
10 Takatsuka S, Morita T, Horikiri Y, Yamahara H, Saji H. Absorption enhancement of poorly absorbed hydrophilic compounds from various mucosal sites by combination of mucolytic agent and non-ionic surfactant. *Int J Pharm* 2007; 338: 87-93 [PMID: 17317052]
11 Nguyen-Khac E, Thevenot T, Piquet MA, Benferhat S, Goria O, Chatelain D, Tramier B, Dewaele F, Ghrib S, Rudler M, Carbonell N, Tossou H, Bental A, Bernard-Chabert B, Dupas JL. Glucocorticoids plus N-acetylcysteine in severe alcoholic hepatitis. *N Engl J Med* 2011; 365: 1781-1789 [PMID: 22070475 DOI: 10.1056/NEJMoa1101214]
12 Chiu CJ, McArdle AH, Brown R, Scott HJ, Gurd FN. Intestinal mucosal lesion in low-flow states. I. A morphological, hemodynamic, and metabolic reappraisal. *Arch Surg* 1970; 101: 478-483 [PMID: 5457245]
13 崔培林, 吕栋, 张峻, 姚士伟, 王燕斌, 杨昭徐. 急性坏死性胰腺炎肠黏膜氧化应激损伤和HIF-1α的表达. 世界华人消化杂志 2009; 17: 24-30
14 栾正刚, 张成, 葛春林, 马晓春, 郭仁宣. 高迁移率族蛋白B1在重症急性胰腺炎肠屏障损害中的作用. 世界华人消化杂志 2007; 15: 3173-3177
15 Ancha HR, Kurella RR, McKimmey CC, Lightfoot S, Harty RF. Effects of N-acetylcysteine plus mesalamine on prostaglandin synthesis and nitric oxide generation in TNBS-induced colitis in rats. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 758-766 [PMID: 18716872 DOI: 10.1007/s10620-008-0438-0]
16 Tayman C, Tonbul A, Kosus A, Hirfanoglu IM, Uysal S, Haltas H, Tatli MM, Andiran F. N-acetylcysteine may prevent severe intestinal damage in necrotizing enterocolitis. *J Pediatr Surg* 2012; 47: 540-550 [PMID: 22424351 DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2011.09.051]
17 Hou Y, Wang L, Zhang W, Yang Z, Ding B, Zhu H, Liu Y, Qiu Y, Yin Y, Wu G. Protective effects of N-acetylcysteine on intestinal functions of piglets challenged with lipopolysaccharide. *Amino Acids* 2012; 43: 1233-1242 [PMID: 22180025 DOI: 10.1007/s00726-011-1191-9]
18 Sevillano S, de la Mano AM, Manso MA, Orfao A, De Dios I. N-acetylcysteine prevents intra-acinar oxygen free radical production in pancreatic duct obstruction-induced acute pancreatitis. *Biochim Biophys Acta* 2003; 1639: 177-184 [PMID: 14636949]
19 裴红红, 秦兆寅, 李小珍, 杨正安, 封英群. 实验性胰腺炎时核因子-κB与p53、bcl-2表达的关系. 中国急救医学 2003; 23: 20-21
20 王世文, 陈东东, 李培杰, 李忠信, 高宁, 张笠. 吗替麦考酚酯对重症急性胰腺炎大鼠脑损伤的保护作用研究. 中国急救医学 2011; 31: 421-425
21 张宇, 严际慎, 张勤, 张琪, 裘华森. 重症急性胰腺炎肺损伤大鼠sICAM-1水平变化及其意义. 世界华人消化杂志 2007; 15: 2345-2347

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2013年5月8日; 21(13): 1218-1225
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

胰腺癌干细胞差异基因的表达及生物信息学分析

江建新, 高 珊, 王 敏, 李 旭, 孙诚谊

■背景资料
胰腺癌进展快、预后差的主要原因是其早期转移、对传统的治疗抵抗以及较易复发. 当前的研究表明胰腺癌干细胞是上述现象的理论基础.

江建新, 孙诚谊, 贵阳医学院附属医院肝胆外科 贵州省贵阳市 550001
高珊, 贵阳医学院附属医院消化内科 贵州省贵阳市 550001
王敏, 李旭, 华中科技大学同济医学院附属同济医院胆胰外科中心 湖北省武汉市 430030
江建新, 副主任医师, 主要从事肝胆胰脾疾病的基础与临床研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81160311
贵州省科技厅贵阳医学院社发联合基金资助项目, No. 黔科合[2010]3171
贵阳市科技局基金资助项目, No. 筑科合[2011103] 22号
贵州省肝胰疾病研究科技创新人才团队项目基金资助项目, No. 黔科合人才团队[2010]4010
作者贡献分布: 主要实验、资料分析、统计及文章撰写由江建新完成; 研究设计、文章修改及审阅由孙诚谊完成; 资料分析、样本处理及生物信息学分析由王敏、李旭及高珊完成.
通讯作者: 孙诚谊, 教授, 550001, 贵州省贵阳市贵医街28号, 贵阳医学院附属医院肝胆外科. chengyisun@medmail.com.cn
电话: 0851-6773083
收稿日期: 2013-01-07 修回日期: 2013-04-01
接受日期: 2013-04-12 在线出版日期: 2013-05-08

Identification and bioinformatic analysis of differentially expressed genes in pancreatic cancer stem cells

Jian-Xin Jiang, Shan Gao, Min Wang, Xu Li, Cheng-Yi Sun

Jian-Xin Jiang, Cheng-Yi Sun, Department of Hepatobiliary Surgery, the Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550001, Guizhou Province, China
Shan Gao, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550001, Guizhou Province, China
Min Wang, Xu Li, Department of Biliary-Pancreatic Surgery, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81160311; the Social Development Joint Foundation of Science and Technology Department of Guizhou Province and Guiyang Medical College, No. [2010]3171; the Foundation of Guiyang City Science and Technology Bureau, No. [2011103] 22; the Liver and Pancreatic Disease Technological Innovation Talent Team Foundation of Guizhou Province, No. [2010]4010
Correspondence to: Cheng-Yi Sun, Professor, Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, 28 Guiyi Street, Guiyang 550001, Guizhou Province, China. chengyisun@medmail.com.cn
Received: 2013-01-07 Revised: 2013-04-01
Accepted: 2013-04-12 Published online: 2013-05-08

Abstract

AIM: To identify differentially expressed genes in pancreatic cancer stem cells and to analyze them by bioinformatics.

METHODS: MIA-PaCa2 (TIC^{high}) and BxPc-3 (TIC^{low}) were used as tool cells in this study. Total RNA was prepared from MIA-PaCa2 (TIC^{high}) and BxPc-3 (TIC^{low}) cells. After quality identification and fluorescent labeling, RNA samples were hybridized with the Agilent human gene expression microarrays. Raw data were normalized using Quantile algorithm and Gene Spring Software 11.0. Gene Ontology database and KEGG database were used for GO and Pathway comments on differentially expressed genes, respectively.

RESULTS: A total of 7059 differentially expressed genes were identified ($P < 0.05$, fold change $\geqslant 2$), including 3440 up-regulated and 3 619 down-regulated genes in MIA-PaCa2 (TIC^{high}) cells. These differentially expressed genes were mainly involved in polyamine metabolic process, nucleobase-containing small molecule interconversion, histone H4 acetylation, cell division, cell cycle, apoptotic process, and toll-like receptor signaling pathway. GO analysis demonstrated they are involved in cancer, endocytosis, O-glycan biosynthesis, pyrimidine metabolism, and glutathione metabolism. Pathway analysis showed the presence of crosstalk among several signaling pathways.

CONCLUSION: Differentially expressed genes identified in this study may be involved in the regulation of different signaling pathways and the genesis of pancreatic cancer stem cells. They might become new therapeutic targets for pancreatic cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Pancreatic carcinoma; Stem cell; Gene microarray; Bioinformatics

Jiang JX, Gao S, Wang M, Li X, Sun CY. Identification and bioinformatic analysis of differentially expressed genes in pancreatic cancer stem cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(13): 1218-1225 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1218.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i13.1218

■同行评议者
王钦红, 副教授, 美国杜克大学医学院肿瘤生物系

摘要

目的: 筛选与胰腺癌干细胞相关的差异表达基因, 并进行生物信息学分析.

方法: 以MIA-PaCa2(TIC^{high})与BxPc-3(TIC^{low})为研究胰腺癌干细胞的工具细胞制备总RNA, 经质量鉴定后进行荧光标记; 采用Agilent人全基因4*44K芯片进行杂交实验, 获得mRNA表达谱; 以Gene Spring Software 11.0软件和Quantile算法分析芯片实验数据, 筛选与胰腺癌干细胞相关的差异mRNAs; 基于Gene Ontology数据库进行GO注释, 基于KEGG数据库进行Pathway注释.

结果: 获得符合基因芯片实验质量标准的RNA样品, 基因芯片杂交及数据分析得到差异表达mRNAs 7059个(P<0.05, fold change≥2), 其中MIA-PaCa2(TIC^{high})中上调表达3440个, 下调表达3619个. GO注释显示他们主要涉及多胺代谢过程、含碱基的小分子相互转换、组蛋白H4乙酰化、细胞分裂、细胞周期、凋亡、Toll样受体信号转导通路等. Pathway注释主要涉及癌症的途径、内吞作用、O-糖基化生物合成、嘧啶代谢、谷胱甘肽代谢等. 信号通路调控网络图显示多条信号通路存在交叉对话.

结论: 筛选出的差异表达基因可能参与胰腺癌干细胞的发生发展, 参与不同信号通路的调控, 并有可能成为胰腺癌新的治疗靶点.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 胰腺癌; 干细胞; 基因芯片; 生物学信息

核心提示: 本文通过通路分析, 发现差异表达的基因显著性影响许多信号通路, 特别是涉及癌症的途径、嘧啶代谢. 通过信号通路调控网络图分析, 显示上述信号通路存在交叉对话, 这有可能从整体角度揭示胰腺癌干细胞的发生与调控机制.

江建新, 高珊, 王敏, 李旭, 孙诚谊. 胰腺癌干细胞差异基因的表达及生物信息学分析. 世界华人消化杂志 2013; 21(13): 1218-1225
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1218.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i13.1218

0 引言

胰腺癌是高度恶性、预后最差的恶性肿瘤之一, 5年生存率不到5%[1]. 大多数患者因确诊时伴有局部和/或远处的侵袭、转移而丧失手术时机[2], 即使临床手术根治性切除的胰腺癌患者术后也大多数因出现复发和远处转移预后极差, 其原因为术前就有微转移灶形成及其化疗抵抗[3]. 胰腺癌的早期转移、对传统的治疗抵抗以及较易复发是其致死的关键因素. 肿瘤干细胞理论解释了上述现象. 胰腺癌干细胞研究表明[4]: 在原发肿瘤里存在一个亚群细胞, 这群细胞具有自我更新、分化潜能以及在异位重新成瘤能力. 同时, 这群细胞还具有侵袭转移和化疗抵抗特性. 最新的研究表明: 胰腺癌在形成之前通过上皮-间质转化(epithelial-to-mesenchymal transition, EMT)形成胰腺癌干细胞, 是其早期发生转移, 治疗抵抗, 复发的根本原因[5]. 已有的研究表明: 具有CD44$^+$/CD24$^-$表型的胰腺癌细胞具有肿瘤干细胞特性, 胰腺癌细胞系MIA-PaCa2的CD44$^+$/CD24$^-$表达率95.5%, 而BxPc-3的表达率17.5%. 因此, MIA-PaCa2(TIC^{high})与BxPc-3(TIC^{low})可以直接作为研究胰腺癌干细胞的工具细胞, 不需要进一步富集[6]. 本研究采用miRNA芯片技术, 以MIA-PaCa2(TIC^{high})和BxPc-3(TIC^{low})为研究对象, 筛选胰腺癌干细胞相关的mRNAs, 并对其进行生物信息学分析, 为进一步研究胰腺癌干细胞的发生和调控机制, 寻找新的治疗靶点奠定基础.

■研发前沿
目前关于胰腺癌干细胞相关基因差异表达谱可见部分文献报道, 作者的课题组也曾利用胰腺癌组织分选的原代胰腺癌干细胞裸鼠模型进行基因芯片分析过胰腺癌干细胞差异基因表达谱.

1 材料和方法

1.1 材料 人胰腺癌细胞株BxPc-3(TIC^{low})和MIA-PaCa2(TIC^{high})由本室保存; 细胞培养按照文献[7,8]采用DMEM培养基(Gibic公司), 含10%的56 ℃热灭活胎牛血清, 25 mmol/L HEPES, 2 mmol/L L-谷氨酰胺, 青霉素50 U/mL及链霉素50 μg/mL.

1.2 方法

1.2.1 RNA抽提、纯化和质检: 采用mirVana™ miRNA Isolation Kit(Ambion, Austin, TX, US)(专用于抽提普通组织、细胞的miRNA)并且根据生产厂商提供的标准操作流程进行样品总的RNA抽提, 抽提所得总RNA经Agilent Bioanalyzer 2100(Agilent technologies, Santa Clara, CA, US)电泳质检合格后备用.

1.2.2 芯片杂交、扫描及数据提取(由上海生物芯片工程有限公司完成): 样品RNA采用Agilent表达谱芯片配套试剂盒, Low Input Quick Amp Labeling Kit, One-Color(Agilent technologies, Santa Clara, CA, US)和标准操作流程对样品总RNA中的mRNA进行放大和标记, 并用RNeasy mini kit(QIAGEN, GmBH, Germany)纯化标记

■相关报道
Kallifatidis等研究, 认为具有CD44$^+$/CD24$^-$表型的胰腺癌细胞具有肿瘤干细胞特性; 胰腺癌细胞系MIA-PaCa2的CD44$^+$/CD24$^-$表达率95.5%, 而BxPc-3的表达率17.5%; 并认为MIA-PaCa2(TIC^{high})与BxPc-3(TIC^{low})可以直接作为研究胰腺癌干细胞的工具细胞. 秦仁义等采用分选的原代胰腺癌干细胞裸鼠模型进行基因芯片分析过胰腺癌干细胞差异基因表达谱, 其中差异基因涉及细胞凋亡、细胞周期、代谢、细胞线粒体结构和耐药等多个方面.

表 1 MIA-PaCa2(TIC^{high})/BxPc-3(TIC^{low})EMT相关基因的差异表达

GeneSymbol	*P*值	改变倍数
S100A4	0.0004723	161.8347
VIM	2.75E-05	59.54529
SNAI1	3.16E-05	18.09616
CDH1	2.64E-05	0.001399
ACTA2	0.25197	0.64338
TJP1	9.83E-05	0.268177
CTNNB1	2.41E-05	0.406122
NFYA	3.67E-06	1.954545

好的cDNA. 按照Agilent表达谱芯片配套提供的杂交标准流程和配套试剂盒(Agilent technologies, Santa Clara, CA, US), 用1.65 μg Cy3标记的cDNA与Agilent人全基因4*44K芯片滚动杂交, 65 ℃, 10 r/min, 滚动杂交17 h. 杂交后的芯片清洗扫描, 洗片所用的试剂为Gene Expression Wash Buffer Kit(Agilent technologies, US), 芯片结果采用Agilent Microarray Scanner(Agilent technologies, US)进行扫描, 软件设置Scan resolution = 5 μm, PMT 100%, 10%, 16 bit. 用Feature Extraction software 10.7(Agilent technologies, US)读取数据, 采用Gene Spring Software 11.0(Agilent technologies, US)进行归一化处理, 所用的算法为Quantile, 杂交信号以数据形式输出. 差异mRNA使用了limma进行显著性水平的计算, 设置参数P<0.05, fold change≥2[Foldchange = Signal MIA-PaCa2(TIC^{high})/Signal BxPc-3(TIC^{low})].

1.2.3 生物信息学分析: (1)功能分析(GO-Analysis): 将上述基因差异表达的mRNA基于Gene Ontology数据库进行GO注释, 得到基因参与的所有的GO. 采用基于超几何分布(hypergeometric distribution)的Fisher exact test进行计算每个GO的显著性水平(P值), 并对多重假设检验的结果进行校正并获得误判率(false discovery rate, FDR), 筛选出差异基因所体现的显著性GO. 显著性筛选的标准: P<0.01. 上调和下调差异基因分别进行显著性功能分析; 然后上调和下调差异基因进行显著性功能富集; (2)通路分析(pathway-analysis): 将上述基因差异表达的mRNA基于基于KEGG数据库进行Pathway注释, 得到差异基因所参与的所有的Pathway. 利用Fisher精确检验计算每个Pathway的显著性水平, 并对多重假设检验的结果进行校正并获得FDR, 筛选出差异基因所显著参与的pathway, 显著性筛选的标准: P<0.05; (3)信号通路调控网络(path-act-network): 基于KEGG数据库对显著pathway之间的关系进行整理, 从宏观方面得到显著性pathway之间的信号转导关系, 然后构建显著性pathway之间的信号转导关系网络. 该网络中Pathway显著性选择标准为P<0.05.

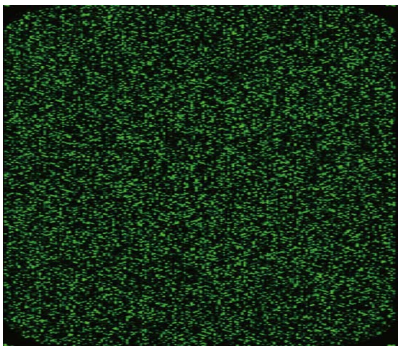


图 1 mRNA芯片杂交代表性图像.

统计学处理 数据用mean±SD表示. 应用SPSS17.0统计软件分析, 基因芯片分析进行t检验.

2 结果

2.1 基因芯片样品总RNA的质量鉴定 所抽提的总RNA, 经分光光度计检测$A_{260/280}$的吸光度, 确定样品的浓度和纯度; 运用Agilent2100系统进行电泳质检. 经测定, RNA的$A_{260/280}$比值介于2.03-2.09, 18S、28S电泳条带清晰, 28S条带无明显降解; RNA完整性评分(RNA integrity number)介于8.7-9.3, RNA样品平均浓度>60 mg/L, 总RNA质量完好, 结果合格, 可以进行芯片实验.

2.2 基因芯片检测结果 mRNA芯片杂交代表性图像见图1, 显示荧光信号分布均匀, 信号点饱满, 背景较低, 杂交效果理想. 将芯片扫描图像导入Feature Extraction software 10.7读取数据, 从中共鉴定到41001个mRNAs, 将数据导入Gene Spring Software 11.0分析, 得到差异表达mRNAs 7059个(P<0.05, fold change≥2), 其中MIA-PaCa2(TIC^{high})中上调表达3440个, 下调表达3619个. 其中部分涉及EMT相关差异表达基因见表l.

2.3 生物信息学分析 上述筛选的差异表达基因基于Gene Ontology数据库进行GO注释, 其中, 其生物学功能主要涉及多胺代谢过程、含碱基的小分子相互转换、组蛋白H4乙酰化、细胞氨基酸生物合成过程、谷胱甘肽的代谢过程、染色体分离、有丝分裂早中期、有丝分裂细胞周期的M期、细胞分裂、细胞周期、信号转导、凋亡、Toll样受体信号转导通路、Ⅰ型干

扰素介导的信号转导通路、semaphorin-plexin信号通路、血小板衍生生长因子受体信号转导途径、肿瘤坏死因子介导的信号转导通路、间充质干细胞分化、半桥粒装配、不依赖TAP的MHC Ⅰ类外源性多肽抗原加工与提呈等. 上调和下调差异基因分别进行显著性功能分析, 显著性功能富集等见图2. 上述筛选的差异表达基因基于KEGG数据库进行Pathway注释, 上调和下调差异基因所显著参与的信号通路见图3. 主要涉及癌症的途径、内吞作用、O-糖基化生物合成、嘧啶代谢、谷胱甘肽代谢等. 基于KEGG数据库对显著pathway之间的关系进行整理, 得到信号通路调控网络见图4.

3 讨论

肿瘤发起细胞, 又称肿瘤干细胞, 具有成瘤、侵袭转移及治疗抵抗作用[9]. Kallifatidis等[6]从胰腺癌细胞标记分子CD44(+)/CD24(-), CD44(+)/CD24(+)或CD44(+)/CD133(+)的表达与裸鼠成瘤能力、分化程度、克隆性生长、肿瘤微球体形成、ALDH活性以及治疗抵抗等肿瘤干细胞特性的关系进行系列研究, 认为具有$CD44^{+}/CD24^{-}$表型的胰腺癌细胞具有肿瘤干细胞特性; 胰腺癌细胞系MIA-PaCa2的$CD44^{+}/CD24^{-}$表达率95.5%, 而BxPc-3的表达率17.5%; 并认为MIA-PaCa2(TIC^{high})与BxPc-3(TIC^{low})可以直接作为研究胰腺癌干细胞的工具细胞, 不需要进一步富集. 因此, 本研究基于上述研究基础, 直接以MIA-PaCa2(TIC^{high})与BxPc-3(TIC^{low})作为研究胰腺癌干细胞的工具细胞, 未做CD44(+)/CD24(-)标志物筛选.

新近的研究表明: 胰腺癌在形成之前, 源于具有潜在癌变分子基础的上皮细胞(如: PanIN 2和3级中胰腺上皮细胞), 在各种因素的作用(如: 慢性胰腺炎)下发生EMT, 导致细胞内相关基因发生重新编程, 获得侵袭转移能力和肿瘤干细胞的特性, 形成胰腺癌干细胞[5]. 其他许多研究也表明: EMT涉及肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)形成, 肿瘤干细胞具有EMT特性. 例如, Gioffi等[10]研究永生化的人乳腺上皮细胞(human mammary epithelial cell, HMLE)在外源性导入Twist或Snail转录因子, 或通过TGF-β1诱导EMT产生过程中, 获得了正常乳腺干细胞表型$CD44^{high}/CD24^{low}$, 并且具有干细胞的特性(如较强的自我更新能力、克隆微球的形成、成瘤能力等); 此外, 通过对$CD44^{low}/CD24^{high}$表型的HMLEs诱导EMT产生过程中, 获得了同样的结果; 这表明EMT能够产生干细胞, 这些细胞也表达EMT相关标志分子(如N-cadherin、Fibronectin、vimentin、FOXC2、SIP1和Snail). 在HMLE中外源性导入*HER2/neu*癌基因(HMLEN cells), 再外源性导入*Twist*或*Snail*基因, 诱导EMT发生, 这些细胞能导致肿瘤形成, 而对照组(未导入*Twist*或*Snail*基因)不能成瘤; 这表明EMT能促进CSCs形成. Xie等[11]研究IL-6介导的EMT导致了乳腺癌干细胞的形成, 认为EMT是癌细胞获得“干性”的关键机制, 非“干性”的癌细胞的EMT是CSCs的一个来源. Morel等[12]研究证实表型$CD44^{+}CD24^{-/low}$的乳腺癌干细胞能够来源于表型$CD44^{low}CD24^{+}$非致瘤性的乳腺上皮细胞, 其机制是通过激活Ras/MAPK信号途径和EMT. Kasimir-Baver等[13]研究表明: 侵入到循环系统中的乳腺癌细胞(circulating tumor cells, CTC)干细胞标志物和EMT分子标志物过表达, 具有肿瘤干细胞和EMT特性. 此外, 许多实验证明在头颈部鳞状癌干细胞、宫颈癌干细胞以及肝癌干细胞与EMT紧密相关[14-16]. Shah等[17]通过对吉西他滨耐药的胰腺癌细胞研究发现, 这群细胞侵袭转移能力更强, EMT标志分子表达升高, 干细胞表型分子CD24、CD44和ESA表达升高. 这表明化疗药物富集的胰腺癌干细胞具有EMT表型的分子基础. Bao等[18,19]研究证实: 在胰腺癌细胞株AsPC-1中, 过表达Notch-1和FoxM1诱导EMT发生, 不仅上调了EMT标志分子(ZEB1、CD44、EpCAM、Hes-1), 也上调了CSC表面标志物(CD44和EpCAM)的表达, 增强了肿瘤细胞的侵袭转移、克隆形成、自我更新等能力; 上述这些研究表明EMT的发生与CSC表型的相关基因重新编程相关, 并有助于肿瘤的复发和耐药. 我们运用芯片技术筛选高表达胰腺癌干细胞MIA-PaCa2(TIC^{high})和低表达胰腺癌干细胞BxPc-3(TIC^{low})的差异基因表达谱表明前者较后者, 与EMT相关的基因表达显著升高, 不仅证实了上述研究结论, 也从一个分子机制层面证实了MIA-PaCa2(TIC^{high})和BxPc-3(TI^{Clow})作为胰腺癌干细胞的研究工具细胞具有一定的可靠性.

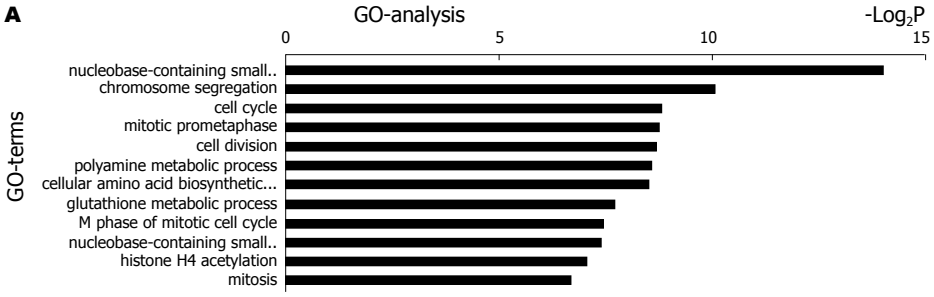
此外, 我们采用生物信息学方法对上述芯片结果进行了分析, 差异表达的基因显著性影响许多生物学功能, 特别是多胺代谢过程和不依赖TAP的MHC Ⅰ类外源性多肽抗原加工与提

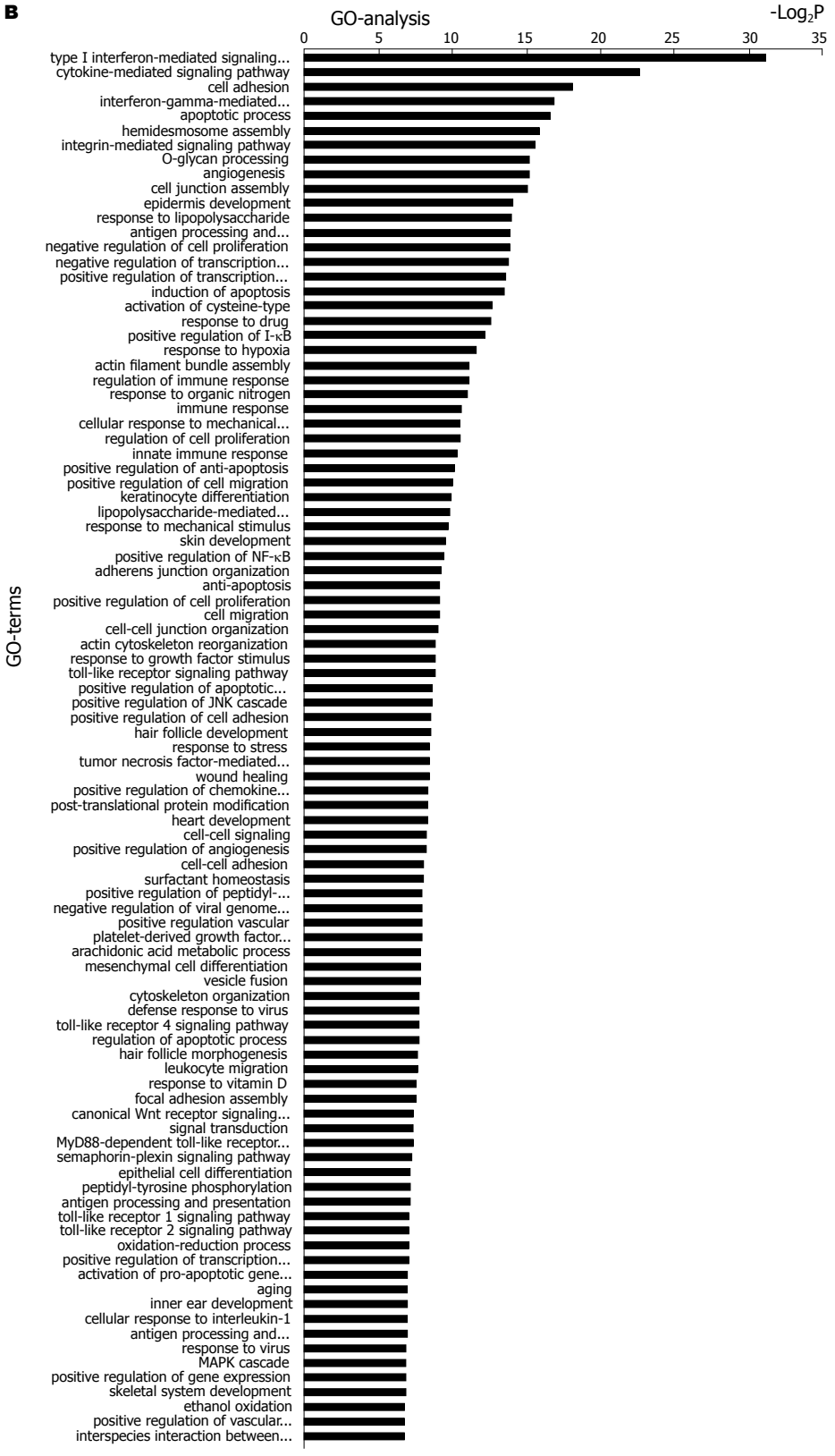
■创新盘点

目前关于采用胰腺癌细胞系MIA-PaCa2(TIC^{high})与BxPc-3(TIC^{low})作为研究胰腺癌干细胞的工具细胞, 采用基因芯片技术筛选、鉴定胰腺癌干细胞相关差异基因表达谱尚未见报道. 本研究结合文献研究有助于发现新的与胰腺癌干细胞发生、发展相关的基因及其调控机制.

■名词解释

转录组学: 一门在整体水平上研究细胞中基因转录的情况及转录调控规律的学科, 是从RNA水平研究基因表达的情况, 是研究细胞表型和功能的一个重要手段.





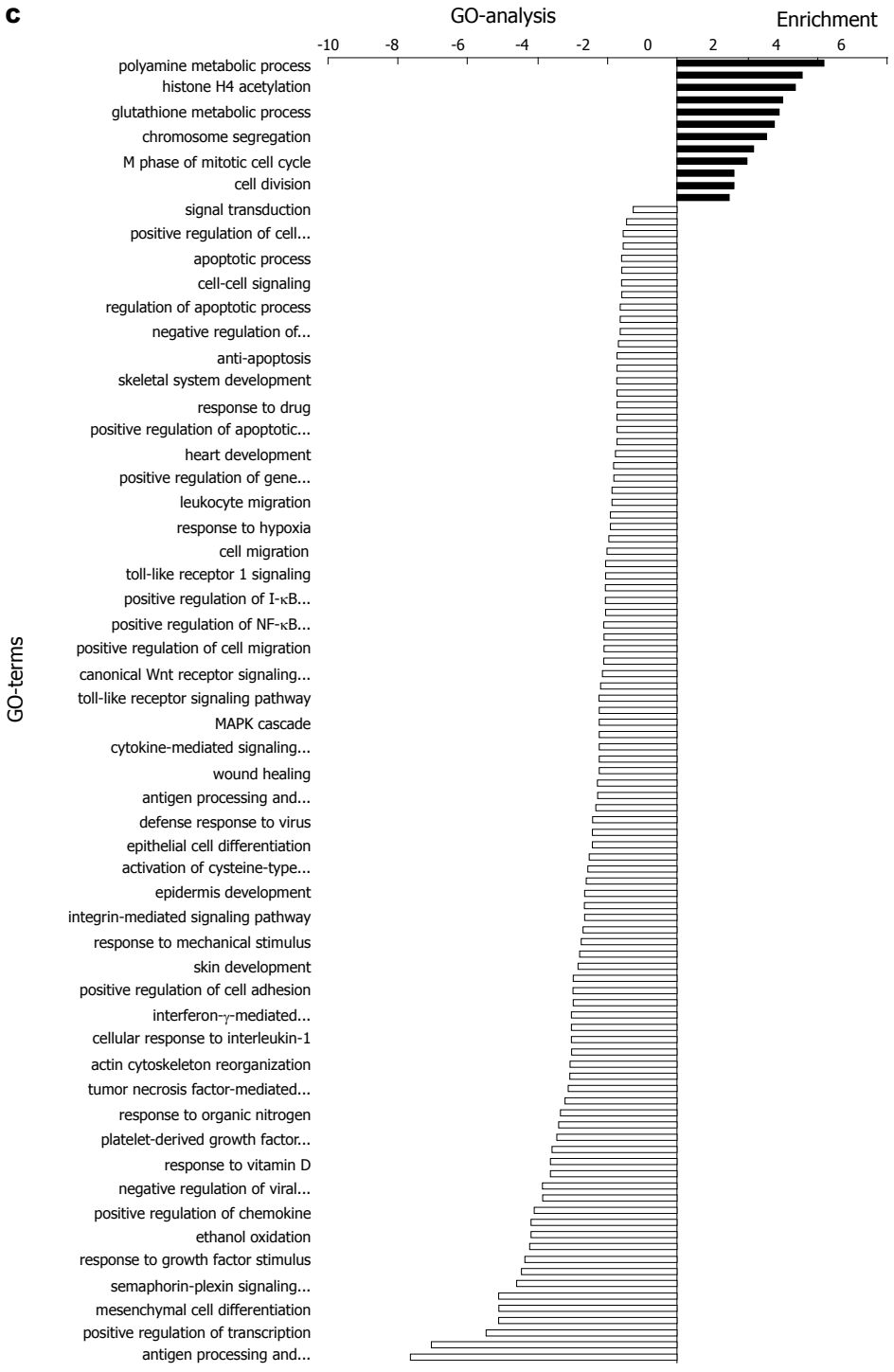


图 2 差异基因显著性功能分析图及显著性功能富集图. A: 上调差异基因显著性功能分析图; B: 下调差异基因显著性功能分析图; C: 显著性功能富集图.

呈, 表明影响上述两个生物学功能的差异表达基因更有可能参与胰腺癌干细胞的表型与发生. 通过通路分析, 发现差异表达的基因显著性影响许多信号通路, 特别是涉及癌症的途径、嘧啶代谢, 表明影响上述两个通路的差异表达基因更有可能揭示胰腺癌干细胞的发生与调控参与胰腺癌干细胞的发生与调控机制. 我们基于KEGG数据库对显著pathway之间的关系进行整理, 得到信号通路调控网络图, 该图显示上述信号通路的交叉对话可能从整体角度揭示胰腺癌干细胞的发生与调控机制.

总之, 我们通过芯片技术筛选了7059条与胰腺癌干细胞相关的差异表达基因, 并对其进行了生物信息学分析, 这些基因的分子功能和参

■同行评价
本文选题新颖, 研究方法合理, 对胰腺癌干细胞相关差异基因表达谱的探讨具有一定的创新, 有重大科研意义.

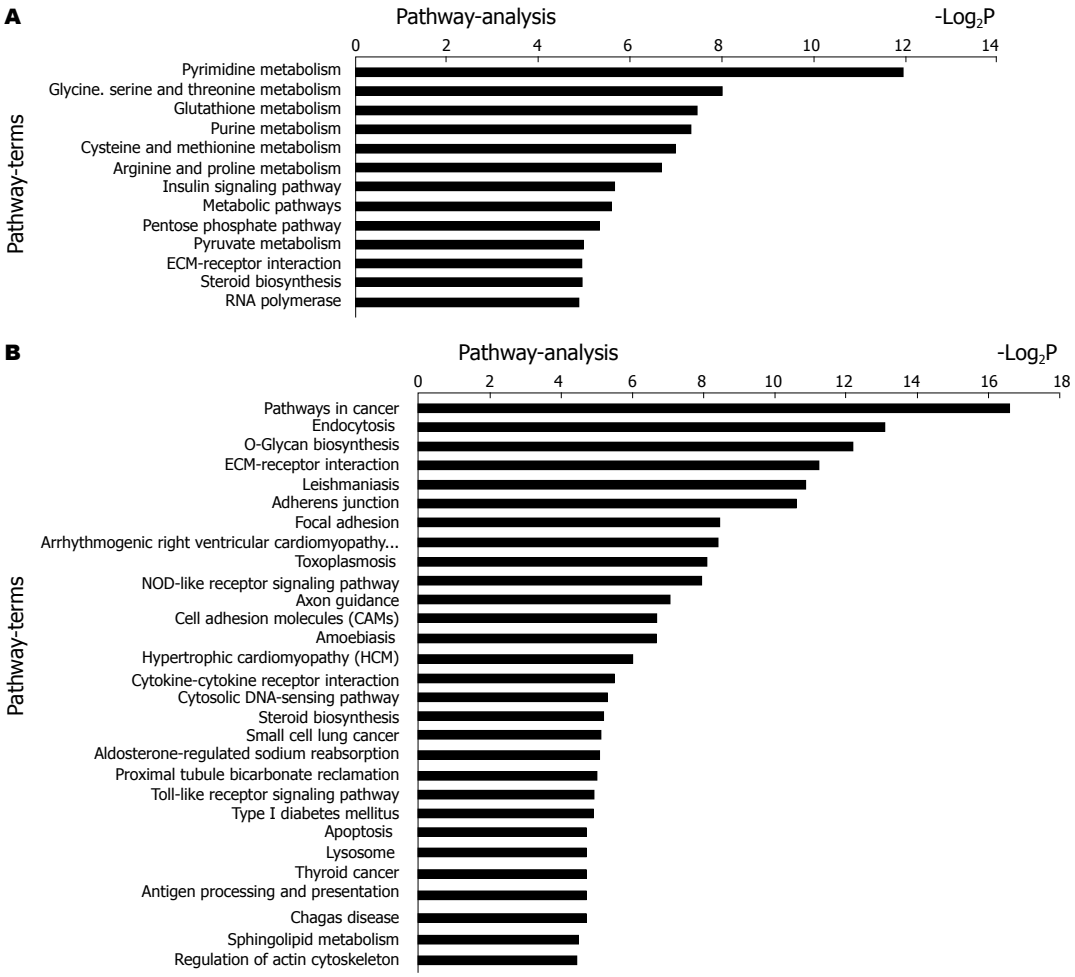


图 3 差异基因显著参与的信号通路图. A: 上调差异基因显著参与的信号通路图; B: 下调差异基因显著参与的信号通路图.

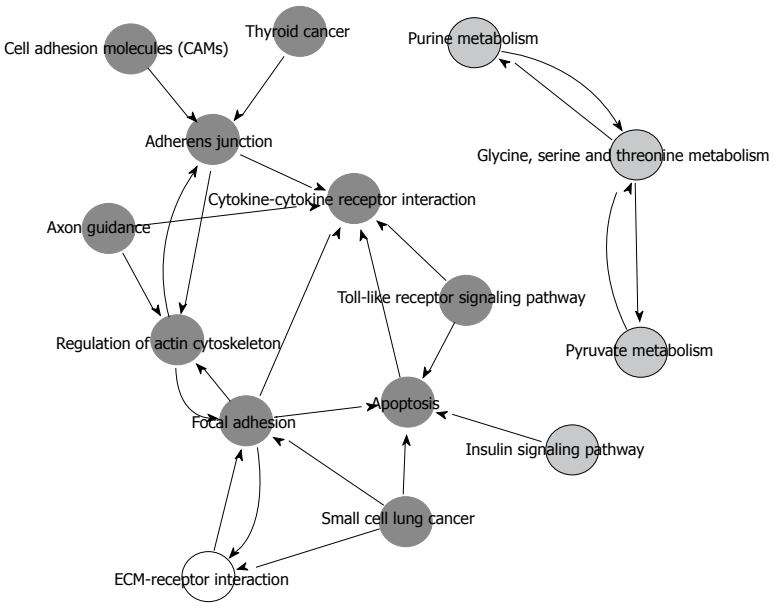


图 4 信号通路调控网络图. 浅灰色: 上调显著的Pathway; 深灰色: 下调显著的Pathway; 白色: 上下调均显著的Pathway.

与的信号通路可能涉及调控胰腺癌干细胞的各种生物学特性, 进一步对其生物学功能和调控机制进行研究, 有助于从整体上分析胰腺癌干细胞的发生机制, 寻找并设计新的治疗靶点.

4 参考文献

1 Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2012; 62: 10-29 [PMID: 22237781 DOI: 10.3322/caac.20138]

2 Tuveson DA, Neoptolemos JP. Understanding metastasis in pancreatic cancer: a call for new clinical approaches. *Cell* 2012; 148: 21-23 [PMID: 22265397 DOI: 10.1016/j.cell.2011.12.021]

3 Lim KH, Chung E, Khan A, Cao D, Linehan D, Ben-Josef E, Wang-Gillam A. Neoadjuvant therapy of pancreatic cancer: the emerging paradigm? *Oncologist* 2012; 17: 192-200 [PMID: 22250057 DOI: 10.1634/theoncologist.2011-0268]

4 Rasheed ZA, Matsui W. Biological and clinical relevance of stem cells in pancreatic adenocarcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27 Suppl 2: 15-18 [PMID: 22320910 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.07015.x]

5 Rhim AD, Mirek ET, Aiello NM, Maitra A, Bailey JM, McAllister F, Reichert M, Beatty GL, Rustgi AK, Vonderheide RH, Leach SD, Stanger BZ. EMT and dissemination precede pancreatic tumor formation. *Cell* 2012; 148: 349-361 [PMID: 22265420 DOI: 10.1016/j.cell.2011.11.025]

6 Kallifatidis G, Rausch V, Baumann B, Apel A, Beckermann BM, Groth A, Mattern J, Li Z, Kolb A, Moldenhauer G, Altevogt P, Wirth T, Werner J, Schemmer P, Büchler MW, Salnikov AV, Herr I. Sulforaphane targets pancreatic tumour-initiating cells by NF-kappaB-induced antiapoptotic signalling. *Gut* 2009; 58: 949-963 [PMID: 18829980 DOI: 10.1136/gut.2008.149039]

7 Rausch V, Liu L, Kallifatidis G, Baumann B, Mattern J, Gladkich J, Wirth T, Schemmer P, Büchler MW, Zöller M, Salnikov AV, Herr I. Synergistic activity of sorafenib and sulforaphane abolishes pancreatic cancer stem cell characteristics. *Cancer Res* 2010; 70: 5004-5013 [PMID: 20530687 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-0066]

8 Zhang C, Kolb A, Büchler P, Cato AC, Mattern J, Rittgen W, Edler L, Debatin KM, Büchler MW, Friess H, Herr I. Corticosteroid co-treatment induces resistance to chemotherapy in surgical resections, xenografts and established cell lines of pancreatic cancer. *BMC Cancer* 2006; 6: 61 [PMID: 16539710 DOI: 10.1186/1471-2407-6-61]

9 Mani SA, Guo W, Liao MJ, Eaton EN, Ayyanan A, Zhou AY, Brooks M, Reinhard F, Zhang CC, Shipitsin M, Campbell LL, Polyak K, Brisken C, Yang J, Weinberg RA. The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells. *Cell* 2008; 133: 704-715 [PMID: 18485877 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-1270]

10 Cioffi M, Dorado J, Baeuerle PA, Heeschen C. EpCAM/CD3-Bispecific T-cell engaging antibody MT110 eliminates primary human pancreatic cancer stem cells. *Clin Cancer Res* 2012; 18: 465-474 [PMID: 22096026 DOI: 10.1016/j.cell.2008.03.027]

11 Xie G, Yao Q, Liu Y, Du S, Liu A, Guo Z, Sun A, Ruan J, Chen L, Ye C, Yuan Y. IL-6-induced epithelial-mesenchymal transition promotes the generation of breast cancer stem-like cells analogous to mammosphere cultures. *Int J Oncol* 2012; 40: 1171-1179 [PMID: 22134360 DOI: 10.3892/ijo.2011.1275]

12 Morel AP, Lièvre M, Thomas C, Hinkal G, Ansieau S, Puisieux A. Generation of breast cancer stem cells through epithelial-mesenchymal transition. *PLoS One* 2008; 3: e2888 [PMID: 18682804 DOI: 10.1371/journal.pone.0002888]

13 Kasimir-Bauer S, Hoffmann O, Wallwiener D, Kimmig R, Fehm T. Expression of stem cell and epithelial-mesenchymal transition markers in primary breast cancer patients with circulating tumor cells. *Breast Cancer Res* 2012; 14: R15 [PMID: 22264265 DOI: 10.1186/bcr3099]

14 Zhang Z, Filho MS, Nör JE. The biology of head and neck cancer stem cells. *Oral Oncol* 2012; 48: 1-9 [PMID: 22070916 DOI: 10.1016/j.oraloncology.2011.10.004]

15 López J, Poitevin A, Mendoza-Martínez V, Pérez-Plasencia C, García-Carrancá A. Cancer-initiating cells derived from established cervical cell lines exhibit stem-cell markers and increased radioresistance. *BMC Cancer* 2012; 12: 48 [PMID: 22284662 DOI: 10.1186/1471-2407-12-48]

16 Kim HM, Haraguchi N, Ishii H, Ohkuma M, Okano M, Mimori K, Eguchi H, Yamamoto H, Nagano H, Sekimoto M, Doki Y, Mori M. Increased CD13 expression reduces reactive oxygen species, promoting survival of liver cancer stem cells via an epithelial-mesenchymal transition-like phenomenon. *Ann Surg Oncol* 2012; 19 Suppl 3: S539-S548 [PMID: 21879266 DOI: 10.1245/s10434-011-2040-5]

17 Shah AN, Summy JM, Zhang J, Park SI, Parikh NU, Gallick GE. Development and characterization of gemcitabine-resistant pancreatic tumor cells. *Ann Surg Oncol* 2007; 14: 3629-3637 [PMID: 17909916 DOI: 10.1245/s10434-007-9583-5]

18 Bao B, Wang Z, Ali S, Kong D, Li Y, Ahmad A, Banerjee S, Azmi AS, Miele L, Sarkar FH. Notch-1 induces epithelial-mesenchymal transition consistent with cancer stem cell phenotype in pancreatic cancer cells. *Cancer Lett* 2011; 307: 26-36 [PMID: 21463919 DOI: 10.1016/j.canlet.2011.03.012]

19 Bao B, Wang Z, Ali S, Kong D, Banerjee S, Ahmad A, Li Y, Azmi AS, Miele L, Sarkar FH. Over-expression of FoxM1 leads to epithelial-mesenchymal transition and cancer stem cell phenotype in pancreatic cancer cells. *J Cell Biochem* 2011; 112: 2296-2306 [PMID: 21503965 DOI: 10.1002/jcb.23150]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2013年5月8日; 21(13): 1226-1233
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

戊己丸不同配伍方对炎症后肠易激综合征模型大鼠结肠运动及5–羟色胺含量的影响

王迎寒, 周淑媛, 王娅杰, 巩仔鹏, 杨 庆, 阚晓溪, 阮从潇, 张瑞杰, 朱晓新

■背景资料
炎症后肠易激综合征(post-infectious irritable bowel syndrome, PI-IBS)是常见的消化系疾病, 多发于青壮年, 发病率高, 目前临床上多采用对症治疗, 效果不佳, 复发率高, 严重影响患者生活质量.

王迎寒, 周淑媛, 王娅杰, 巩仔鹏, 杨庆, 阚晓溪, 阮从潇, 张瑞杰, 朱晓新, 中国中医科学院中药研究所 北京市 100700
王迎寒, 承德医学院中药研究所 河北省承德市 067000
王迎寒, 主要从事中药药理学的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 3093011
国家国际科技合作基金资助项目, No. S2011ZR0193
作者贡献分布: 此课题由朱晓新指导; 王迎寒进行文献检索及实验设计; 实验操作及数据采集由王迎寒、周淑媛、王娅杰、巩仔鹏、杨庆、阚晓溪、阮从潇及张瑞杰等共同完成; 数据分析及论文撰写由王迎寒完成; 实验指导及论文修改由朱晓新完成.
通讯作者: 朱晓新, 研究员, 博士生导师, 100700, 北京市东城区东直门内大街南小街16号, 中国中医科学院中药研究所.
zhuxx59@yahoo.com.cn
电话: 010-64056154
收稿日期: 2013-02-26 修回日期: 2013-03-28
接受日期: 2013-04-18 在线出版日期: 2013-05-08

Influence of Wuji Wan in different compatibilities on colonic motility and 5-hydroxytryptamine contents in rats with post-infectious irritable bowel syndrome

Ying-Han Wang, Shu-Yuan Zhou, Ya-Jie Wang, Zi-Peng Gong, Qing Yang, Xiao-Xi Kan, Cong-Xiao Ruan, Rui-Jie Zhang, Xiao-Xin Zhu

Ying-Han Wang, Shu-Yuan Zhou, Ya-Jie Wang, Zi-Peng Gong, Qing Yang, Xiao-Xi Kan, Cong-Xiao Ruan, Rui-Jie Zhang, Xiao-Xin Zhu, Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Traditional Chinese Medicine Science, Dongzhimennei Dajie Nanxiaojie, Beijing 100700, China
Ying-Han Wang, Institute of Chinese Materia Medica, Chengde Medical University, Chengde 067000, Hebei Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30930114; the National International Science and Technology Cooperation Project, No. S2011ZR0193
Correspondence to: Xiao-Xin Zhu, Professor, Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Traditional Chinese Medicine Science,16 South Alley, Dongzhimen Street, Beijing 100700, China. zhuxx59@yahoo.com.cn
Received: 2013-02-26 Revised: 2013-03-28
Accepted: 2013-04-18 Published online: 2013-05-08

Abstract

AIM: To evaluate the effect of Wuji Wan in different compatibilities on colonic motility and 5-hydroxytryptamine (5-HT) contents in rats with post-infectious irritable bowel syndrome (PI-IBS).

METHODS: A rat model of PI-IBS was established by intracolonic instillation of acetic acid and restraint stress. Rats were divided into several groups. Wuji Wan in different compatibilities was given to rats in Wuji Wan groups, Pinaverium bromide tablets to rats in the positive group and water to the other two groups. BIOPAC MP150 polygraph was used to record colon motion curves and evaluate colonic motility using motility index and the change rate of the motility index. HPLC-ECD was used to determine the contents of 5-HT and the percent conversion of 5-HT in serum, colon, odobenus rosmarus, hypothalamus and frontal lobe. The number of mast cells was counted to calculate their degranulation rate by Toluene ammonia blue staining.

RESULTS: After treatment, the colonic motility index (1770.10, 1504.97, 1700.64, 1467.22 *vs* 2112.15) and the change rate of motility index (68.10, 40.16, 59.97, 39.33 *vs* 104.69) in middle- and high-dose Wuji Wan groups were significantly decreased (all $P < 0.01$). The content of 5-hydroxytryptamine in the colon (3493.38, 2640.41, 2086.08, 3255.63, 2688.69, 2129.13 *vs* 4168.36) was remarkably reduced (all $P < 0.01$) and the conversion rate of 5-HT in serum (3.20, 4.60, 6.61, 2.86, 3.40, 4.05 *vs* 2.08) was notably increased (all $P < 0.05$ or 0.01). In the middle- and high-dose groups, the contents of 5-HT in the limbic system (243.16, 295.03, 250.28, 303.61 *vs* 124.42; 303.51, 397.30, 339.94, 353.02 *vs* 198.58; 260.87, 302.75, 254.65, 298.92 *vs* 166.71) were increased (all $P < 0.01$) and the percent conversion of 5-HT (134.69, 98.61, 130.57, 95.87 *vs* 281.91; 209.43, 184.55, 189.56, 186.75 *vs* 262.01; 109.36, 86.52, 115.41, 88.47 *vs* 268.36) was decreased (all $P < 0.05$ or 0.01). The number of mast cells (6.40, 5.11, 6.48, 5.57 *vs* 10.47) and their degranulation ratio (23.81, 17.94, 23.25, 19.19 *vs* 34.10) were significantly decreased (all $P < 0.01$).

CONCLUSION: Wuji Wan in different compat-

■同行评议者
黄恒青, 主任医师, 福建省第二人民医院消化内科

ibilities exerts therapeutic effects on colonic motility in rats with post-infectious irritable bowel syndrome possibly by improving the contents of 5-HT and the abnormal condition of mast cells and therefore modulating the function of the brain-gut axis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Wuji Wan in different compatibilities; Post-infectious irritable bowel syndrome; Colonic motility; 5-hydroxytryptamine; Mast cells; Brain-gut axis

Wang YH, Zhou SY, Wang YJ, Gong ZP, Yang Q, Kan XX, Ruan CX, Zhang RJ, Zhu XX. Influence of Wuji Wan in different compatibilities on colonic motility and 5-hydroxytryptamine contents in rats with post-infectious irritable bowel syndrome. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(13): 1226-1233 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1226.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i13.1226

摘要

目的: 评价戊己丸不同配伍方对炎症后肠易激综合征(post-infectious irritable bowel syndrome, PI-IBS)模型大鼠结肠运动功能的作用, 并从5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)角度初步探讨其作用机制.

方法: 采用乙酸灌肠加束缚应激建立PI-IBS大鼠模型, 应用戊己丸不同配伍方进行干预, 应用BIOPAC MP150型多导生理记录仪描记大鼠结肠运动曲线, 计算结肠运动指数和运动指数变化率, 同时利用高效液相法检测血清、结肠、海马、下丘脑和额叶中5-HT的含量及5-HT转化率, 甲苯胺蓝染色法计算结肠肥大细胞数目和脱颗粒率.

结果: 经戊己丸治疗后, 中、高剂量组PI-IBS模型大鼠结肠运动指数(1770.10、1504.97、1700.64、1467.22 *vs* 2112.15) 和运动指数变化率(68.10、40.16、59.97、 39.33 *vs* 104.69)均显著下降($P<0.01$). 结肠组织中5-HT含量显著下降(3493.38、2640.41、2086.08、3255.63、2688.69、2129.13 *vs* 4168.36), 血清中5-HT转化率(3.20、4.60、6.61、2.86、3.40、4.05 *vs* 2.08)明显升高($P<0.05$, $P<0.01$). 中、高剂量组中枢边缘系统中5-HT含量(243.16、295.03、250.28、303.61 *vs* 124.42; 303.51、397.30、339.94、353.02 *vs* 198.58; 260.87、302.75、254.65、298.92 *vs* 166.71)显著升高($P<0.01$), 5-HT转化率(134.69、98.61、130.57、95.87 *vs* 281.91; 209.43、184.55、189.56、186.75 *vs* 262.01; 109.36、86.52、115.41、88.47 *vs* 268.36)明显下降($P<0.05$, $P<0.01$). 结肠黏膜肥大细胞数目(6.40、5.11、6.48、5.57 *vs* 10.47)和脱颗粒率(23.81、17.94、23.25、19.19 *vs* 34.10)亦明显下降($P<0.01$).

结论: 戊己丸不同配伍方改善PI-IBS模型大鼠结肠运动功能的作用机制可能是通过改善5-HT含量及肥大细胞的异常状态, 从而调节脑-肠轴功能实现的.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 戊己丸不同配伍方; 炎症后肠易激综合征; 结肠运动; 5-HT; 肥大细胞; 脑-肠轴

核心提示: 通过研究戊己丸不同配伍方对炎症后肠易激综合征(post-infectious irritable bowel syndrome)模型大鼠结肠运动功能的作用, 并基于结肠和大脑边缘系统中5-羟色胺(5-hydroxytryptamine)的变化探讨其作用机制. 证实戊己丸通过调节脑-肠轴功能改善模型大鼠结肠运动功能.

王迎寒, 周淑媛, 王娅杰, 巩仔鹏, 杨庆, 阚晓溪, 阮从潇, 张瑞杰, 朱晓新. 戊己丸不同配伍方对炎症后肠易激综合征模型大鼠结肠运动及5-羟色胺含量的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(13): 1226-1233 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1226.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i13.1226

0 引言

戊己丸是《中国药典》2000年版(一部)收录的中医名方, 由黄连、制吴茱萸和土炒白芍组成, 具有泻肝和胃, 降逆止呕的功效, 用于肝火犯胃、肝脾不和所致的腹痛、泄泻、呕吐吞酸、胃脘灼热疼痛、口苦嘈杂等证. 临床上常用于治疗肠易激综合征、胃溃疡等消化系疾病.

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是临床上常见的慢性功能性消化系疾病, 以腹痛、腹胀及排便异常为主要临床症状, 临床发现, 在胃肠道急性感染恢复后, 许多患者出现IBS相关症状, 被称为炎症后肠易激综合征(post-infectious irritable bowel syndrome, PI-IBS), 且患者往往伴有焦虑、抑郁等精神症状, 普通人群患病率为5%-11%[1], 不同程度影响人们的工作和生活, 同时也耗费了大量的医疗资源. 到目前为止, IBS的发病机制尚未阐明, 现在观点主要认为肠运动功能紊乱和内脏敏感性增高是其病理生理的主要方面, 心理社会因素在诱发或加重症状上

■研发前沿
至今肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)的发病机制尚未完全阐明, 越来越多的研究证明, 脑-肠轴的调节作用在IBS的发病过程中起到非常重要的作用, 目前已经成为研究的热点.

■相关报道
Kilkens等证实, 抑制5-HT再摄取能够影响腹泻型IBS患者和正常人的神经内分泌反应和认知功能, 但对内脏的感知无明显影响, 为临床治疗提供了有价值信息.

具有重要作用, 其实质就是脑-肠互动异常, 即胃肠运动功能紊乱、内脏敏感性改变及心理社会因素借助脑-肠轴的联系, 通过脑-肠互动在肠易激综合征发病机制中起重要作用. 研究认为, 脑-肠之间的联系可能是通过分泌一些既存在于肠神经系统(enteric nervous system, ENS)也存在于中枢神经系统(central nervous system, CNS)的被称为“脑肠肽”的神经递质, 在CNS与ENS以及胃肠道效应细胞间传递而实现, 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)广泛存在于大脑及肠道, 参与脑-肠轴功能调节, 对IBS的发病起关键作用. 本实验拟采用Jun-Ho La的方法建立的PI-IBS大鼠模型, 应用戊己丸不同配伍方进行治疗, 评价各组大鼠的结肠运动功能, 并从其改变5-HT含量的角度初步阐述其作用机制.

1 材料和方法

1.1 材料 ♂SD大鼠90只, SPF级, 体质量250 g±20 g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 合格证号: SCXK(京)2012-0001. 冰醋酸(北京化工厂, 批号: 2100603); 甲醛(国药集团化学试剂有限公司, 批号: 20111128); 高氯酸(国药集团化学试剂有限公司, 批号: F20100610); 偏重亚硫酸钠(天津市塘沽新华化工厂, 批号: 840717); 磷酸二氢钠(北京市旭东化工厂, 批号: 2009207); 辛烷磺酸钠(东京化成工业株式会社, 批号: I0346); 乙二胺四乙酸(北京化工厂, 批号: 840529); 氯化钾(北京市旭东化工厂, 批号: 20110516); 甲醇(Germany, 批号: 603-001-00-x); 乙腈(Germany, 批号: 608-001-00-3); 水合氯醛(北京市旭东化工厂, 批号: 040526). 戊己丸提取物: 黄连、制吴茱萸、炒白芍饮片购自北京卫仁饮片厂, 并经中国中医科学院中药研究所鉴定, 黄连醇提物、吴茱萸醇提物、白芍水提物由中日友好医院剂型室按照优选工艺分别进行提取; 将单味药按$L_9(3^4)$正交表(黄连、吴茱萸、白芍各有3个剂量水平交互配比成戊己丸9个不同配伍方, 以戊己丸方中黄连、吴茱萸及白芍的比例分别为12∶2∶3, 12∶1∶12为受试的1#方和2#方[2].

得舒特: 法国苏威制药厂, 批号: 624464. MP150型多导生理记录分析系统, DA 100C通用放大器, 美国BIOPAC公司; YP200型压力换能器, 北京新航兴业科贸有限公司; 带导管的水囊(自制); JY92-Ⅱ超声波细胞粉碎机, 宁波新芝生物科技股份有限公司; DECADE Ⅱ SDC检测器, Netherlands Antec Leyden; S2100 Solvent Delivery System; S5200 SAMPLE INJECTOR; C18柱子, 3 μm, 2.1 mm×100 mm, serial No. 344; FINESSE 325切片机, Thermo SCIENTIFIC; HISTOCENTRE 3石蜡包埋机, Thermo SCIENTIFIC; EXCELSIOR ES脱水机, Thermo SCIENTIFIC; BX51显微镜, OLYMPUS; 自动染色机, Varistan Gemini, Thermo SCIENTIFIC; SORVALL LEGEND RT+冷冻高速离心机, Thermo SCIENTIFIC.

1.2 方法

1.2.1 分组: 随机分成9组, 分别为正常组(NC)、模型组(M)、阳性对照组(PC)、戊己丸1#方高剂量组(W1-H)、戊己丸1#方中剂量组(W1-M)、戊己丸1#方低剂量组(W1-L)、戊己丸2#方高剂量组(W2-H)、戊己丸2#方中剂量组(W2-M)、戊己丸2#方低剂量组(W2-L).

1.2.2 PI-IBS大鼠模型的建立方法: 参照Jun-Ho La建立的PI-IBS大鼠模型[3]: 实验前24 h禁食, 不禁水, 乙醚麻醉后经肛门插入连接注射器的硅胶管(距肛门8 cm), 结肠内灌入40 mL/L的乙酸1 mL, 缓慢拔出硅胶管, 用手压迫肛门并将大鼠尾巴抬高30 s, 然后用0.01 mol/L PBS 1 mL冲洗结肠. 恢复7 d. 第8天用纸带束缚大鼠的前肩、前上肢、胸部, 限制前上肢搔抓头面部, 但不限制其活动, 束缚时间1 h, 然后立即测量解束缚后1 h内的结肠运动. 正常组: 实验前24 h禁食, 不禁水, 乙醚麻醉后经肛门插入连接注射器的硅胶管(距肛门8 cm), 结肠内灌入0.01 mol/L PBS 1 mL, 缓慢拔出硅胶管, 用手压迫肛门并将大鼠尾巴抬高30 s, 然后用0.01 mol/L PBS 1 mL冲洗结肠, 无束缚应激.

1.2.3 给药处理: 除正常组外, 其余各组在应激后, 按照分组给予不同的药物灌胃: 以1#方(12∶2∶3)、2#方(12∶1∶12)配伍比例配药, 以临床2倍量为中剂量, 即: 1#方以0.491 g/kg(2.824 g/kg, 按饮片量折算)为中剂量, 2#方以0.602 g/kg(4.152 g/kg, 按饮片量折算)为中剂量, 加倍、减半分别为大、小剂量, 得舒特0.0135 g/kg, 均以20 mL/kg灌胃给药, 模型组与正常组给与等量蒸馏水. 灌胃每天早上08:00开始, 给药持续7 d.

1.2.4 观察指标: (1)结肠运动指数及运动指数变化率: 将橡胶小囊与塑料导管(直径2 mm)相连, 并用0号手术线扎紧, 将导管与一端接1 mL注射器, 而另一端接压力换能器的三通管相连接, 用注射器注入水, 排净气泡, 使整个管路密闭, 再将压力传感器与BIOPAC MP 150多导生

表 1 各组大鼠结肠运动指数和运动指数变化率的变化 (mean ± SD)

分组	运动指数(mmHg•S)			运动指数变化率(%)	
	建模前	应激后	治疗后	应激后	治疗后
NC	1073.40 ± 95.12	1096.65 ± 158.44	1086.22 ± 93.47	2.96 ± 17.85	1.82 ± 11.74
M	1039.15 ± 90.94	2092.27 ± 183.42^{b}	2112.15 ± 107.20^{b}	102.36 ± 21.09^{b}	104.69 ± 20.67^{b}
PC	1090.29 ± 105.93	2110.88 ± 179.30^{b}	1470.92 ± 86.85^{bd}	94.12 ± 12.00^{b}	35.70 ± 11.21^{bd}
W1-L	1090.51 ± 121.77	2094.32 ± 197.26^{b}	2050.09 ± 113.79^{bf}	93.98 ± 25.91^{b}	90.06 ± 23.24^{bf}
W1-M	1062.69 ± 128.69	2063.43 ± 249.82^{b}	1770.10 ± 85.29^{bdf}	94.65 ± 15.00^{b}	68.10 ± 15.45^{bdf}
W1-H	1082.70 ± 108.04	2050.40 ± 146.10^{b}	1504.97 ± 136.17^{bd}	90.21 ± 13.38^{b}	40.16 ± 18.05^{bd}
W2-L	1045.93 ± 100.93	1983.74 ± 230.12^{b}	2038.89 ± 136.94^{bf}	90.57 ± 23.75^{b}	96.58 ± 23.13^{bf}
W2-M	1062.96 ± 94.56	2048.49 ± 212.56^{b}	1700.64 ± 93.50^{bdf}	94.30 ± 28.87^{b}	59.97 ± 13.22^{bdf}
W2-H	1065.73 ± 150.41	2002.64 ± 249.52^{b}	1467.22 ± 118.53^{ad}	88.97 ± 17.32^{b}	39.33 ± 15.84^{bd}

^{a}P<0.05, ^{b}P<0.01 *vs* NC组; ^{c}P<0.05, ^{d}P<0.01 *vs* M组; ^{f}P<0.01 *vs* PC组. NC: 正常组; M: 模型组; PC: 阳性对照组; W1-H: 戊己丸1#方高剂量组; W1-M: 戊己丸1#方中剂量组; W1-L: 戊己丸1#方低剂量组; W2-H: 戊己丸2#方高剂量组; W2-M: 戊己丸2#方中剂量组; W2-L: 戊己丸2#方低剂量组.

■创新盘点

目前, 关于脑-肠轴在PI-IBS发病中的作用的报道较少, 本文通过应用戊己丸干预PI-IBS模型大鼠, 考查了5-HT这一脑肠肽的变化及肥大细胞的状态, 初步揭示了戊己丸的作用机制.

理记录仪相连. 实验前禁食24 h, 先将小囊中的水吸入注射器, 用液体石蜡润滑小囊及导管, 并在大鼠肛门内滴两滴液体石蜡, 轻轻将小囊连同导管从肛门插入大鼠肠道7 cm, 再用胶布将导管固定于鼠尾, 防止滑脱. 缓慢往小囊内注入水, 观察记录仪描记情况, 选择描记曲线最敏感时停止注射. 稳定30 min后, 描记结肠运动曲线. 记录时间点为: 造模前、应激后、治疗后. 计算5 min内结肠运动指数(motility index, MI)和运动指数变化率: 结肠运动指数即曲线下面积[4](由BIOPAC软件自动计算). 计算方法: 连续测量6个5 min内的曲线下面积, 取其均值作用为MI; MI变化率 = (各组实验后的运动指数-实验前自身的运动指数)/实验前自身的运动指数×100%; (2)5-HT和5-HT转化率: HPLC法检测5-HIAA及5-HT含量. 首先配制含高氯酸(0.15 mol/L)、$Na_2S_2O_5$(0.4%)、EDTA(0.04%)的蛋白沉淀液. 最后一次测量后立即剖腹, 腹主动脉采血5 mL, 于距肛门8 cm处取结肠1 cm, 同时取脑, 冰上迅速分离海马、下丘脑及额叶, 放入干冰速冻; 血于4 ℃静置2 h, 4 ℃, 3500 r/min离心20 min, 取上清, 均置于-80 ℃冰箱保存. 检测时, 每100 μL血清, 加入500 μL蛋白沉淀液; 每100 mg结肠或脑组织加1 mL的蛋白沉淀液, 冰浴下剪碎, 用细胞破碎仪破碎3次, 每次2 s, 中间间隔15 s, 然后均涡旋2 min, 12000 r/min, 4 ℃离心10 min, 取上清液200 μL于内衬管中, 上机检测. 检测色谱条件参照赵焕英等[5]报道的方法, 并稍做改进. 色谱柱: Antec Leyden BV C18色谱柱(2.1 mm×100 mm, 3 μm); 流动相: 水-甲醇(85∶15), 然后加入0.74 mmol/L辛烷磺酸钠、100 mmol/L NaH_2PO_4•$2H_2O$、0.027 mmol/L EDTA和2 mmol/L KCl, 混匀, 再加1%乙腈和0.05%醋酸, 最后用H_3PO_4或者NaOH调节pH到3.32; 流速: 0.2 mL/min柱温: 30 ℃; 电化学检测器: 工作电极为玻璃碳电极, 参比电极为银/氯化银(Ag/AgCl)电极, 工作电压为0.52 V; (3)肥大细胞计数及病理观察: 分别于距肛门和回结连接处2 cm取结肠2段, 立即投入10%福尔马林中固定. 将固定好的结肠组织取材修块后, 经梯度乙醇脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋后, 4 μm切片, 远端结肠切片进行HE染色, 近端结肠切片行甲苯胺蓝染色. 肥大细胞计数: 每张切片随机选取6个视野, 置于OLYMPUS BX51显微镜高倍镜(×400)下观察, 取其平均值, 计数每张切片的肥大细胞数、脱颗粒细胞数, 并计算其脱颗粒率. 脱颗粒的判定标准: 胞膜破溃, 紫红色颗粒逸出胞外. 脱颗粒率 = 脱颗粒细胞数/肥大细胞数×100%.

统计学处理 所有数据用mean±SD表示, 应用SPSS17.0统计软件进行单因素方差分析, 两两比较, 方差齐者采用LSD检验, 方差不齐者用Dunnett's T3检验, 以P<0.05为差异显著性标准.

2 结果

2.1 各组大鼠结肠运动指数及运动指数变化率的变化 由表1可知, 在建模之前, 各组大鼠之间的结肠运动指数无差异. 应激后, 各建模组大鼠结肠运动显著加快, 结肠运动指数和结肠运动指数变化率与正常组相比, 差异非常显著(P<0.01). 治

■应用要点
戊己丸具有清肝和胃, 降逆止呕的作用, 临床上常用来治疗IBS, 本文为戊己丸的临床应用提供了理论依据.

表 2 各组大鼠血清和结肠中5-HT及5-HT变化率 (mean ± SD)

分组	血清			结肠		
	5-HIAA(ng/mL)	5-HT(ng/mL)	5-HT转化率(%)	5-HIAA(ng/g)	5-HT(ng/g)	5-HT转化率(%)
NC	82.67 ± 4.44	2071.75 ± 213.14	4.04 ± 0.61	750.30 ± 133.38	2174.38 ± 317.92	35.07 ± 8.11
M	65.74 ± 12.41[a]	3222.28 ± 690.29	2.09 ± 0.39[b]	1005.58 ± 112.25[b]	4168.36 ± 635.80[b]	24.51 ± 4.19
PC	80.16 ± 15.06[c]	2402.49 ± 826.90	3.61 ± 1.12[d]	850.99 ± 119.97[c]	3088.26 ± 497.42[bd]	27.83 ± 3.47
W1-L	76.43 ± 8.52	2453.03 ± 469.78	3.20 ± 0.69[c]	890.35 ± 150.21	3493.38 ± 1064.29[bc]	26.26 ± 3.60
W1-M	85.77 ± 7.73[d]	1975.92 ± 506.98	4.60 ± 1.33[d]	798.26 ± 120.25[d]	2640.41 ± 459.79[d]	30.64 ± 4.28
W1-H	92.37 ± 7.93[d]	1428.82 ± 316.46[c]	6.61 ± 0.82[bdf]	734.58 ± 152.88[d]	2086.08 ± 442.61[df]	36.29 ± 9.07
W2-L	68.27 ± 11.20[a]	2413.46 ± 451.00	2.86 ± 0.42[a]	855.49 ± 131.42	3255.63 ± 527.84[bd]	26.53 ± 3.96
W2-M	74.96 ± 15.16	2284.58 ± 584.61	3.40 ± 0.73[c]	758.02 ± 120.23[d]	2688.69 ± 227.17[d]	28.36 ± 5.05
W2-H	78.56 ± 17.09	2001.02 ± 278.54	4.05 ± 1.37[d]	713.29 ± 122.04[d]	2129.13 ± 248.64[df]	33.93 ± 7.63

[a]P<0.05, [b]P<0.01 *vs* NC组; [c]P<0.05, [d]P<0.01 *vs* M组; [f]P<0.01 *vs* PC组. NC: 正常组; M: 模型组; PC: 阳性对照组; W1-H: 戊己丸1#方高剂量组; W1-M: 戊己丸1#方中剂量组; W1-L: 戊己丸1#方低剂量组; W2-H: 戊己丸2#方高剂量组; W2-M: 戊己丸2#方中剂量组; W2-L: 戊己丸2#方低剂量组. 5-HT: 5-羟色胺.

疗后, 各治疗组大鼠结肠运动指数和结肠运动指数变化率均有所降低, 与M组相比, PC、W1-M、W1-H、W2-M、W2-H组大鼠结肠运动明显减慢, 差异显著(P<0.01). W1-L和W2-L组大鼠结肠运动虽亦减慢, 但无显著差异. PC组与W1-L、W1-M、W2-L、W2-M组之间差异显著(P<0.01); 与W1-H, W2-H则无统计学差异. 戊己丸1#方和戊己丸2#方的3个剂量组之间亦有明显差异, 但1#方和2#方的同剂量组间并无差异.

2.2 各组大鼠5-HT及5-HT变化率的变化 模型组大鼠血清中5-HT含量较正常组有所增高, 5-HIAA含量、5-HT转化率均显著降低(P<0.05, P<0.01). 与模型组相比, 各治疗组大鼠血清5-HT含量均不同程度降低, W1-H差异显著(P<0.05), W1-L与W1-H之间差异显著(P<0.05). 各治疗组5-HIAA的含量有不同程度的升高, PC、W1-M和W1-H组差异显著(P<0.05, P<0.01); W1-L与W1-H, W1-H与W2-H间差异显著(P<0.05). 5-HT转化率较M组有不同程度的提高, 除W2-L组外均有显著差异(P<0.05, P<0.01); W1-H与PC组有显著差异(P<0.01); 1#方3个剂量组间差异显著, 2#方低、高剂量组间有显著差异, 1#方与2#方高剂量组间差异显著(P<0.05)(表2).

模型组大鼠结肠中5-HT和5-HIAA含量较正常组明显增高(P<0.01), 而5-HT转化率虽有所降低, 但无显著差异; 与模型组相比, 各治疗组大鼠结肠组织中5-HT含量有不同程度降低(P<0.05, P<0.01), W2-H组较PC组明显下降, W1-L组与W1-M, W1-H有明显差异; W2-L与W2-H差异显著(P<0.01). 5-HIAA的含量亦较模型组有不同程度的降低, PC、W1-M、W1-H、W2-M和W2-H组差异显著(P<0.05, P<0.01), 1#方低、高剂量组间差异显著. 各组5-HT转化率无统计学差异(表2).

由表3可知, 模型组大鼠海马中5-HT含量较正常组明显降低(P<0.01), 5-HIAA含量和5-HT转化率明显升高(P<0.01, P<0.01). 与模型组比较, 各治疗组大鼠海马组织中5-HT含量较模型组均有不同程度升高, 除W1-L组外均有显著差异(P<0.05, P<0.01). 1#方和2#方中、高剂量组与PC组差异显著(P<0.01). 1#方和2#方3个剂量组间差异显著. 各治疗组5-HIAA的含量较M组有不同程度的降低, PC、W1-H和W2-H组差异显著(P<0.05, P<0.01); PC组与1#方和2#方低、中剂量组间有统计学差异(P<0.05, P<0.01). 1#方低、高剂量组间有显著差异(P<0.01). 5-HT转化率相对于模型组有不同程度的降低, 差异显著(P<0.05, P<0.01). 1#方和2#方高剂量组较PC组下降更显著(P<0.05, P<0.01). W1-L与W1-M, W1-H之间有统计学差异, W2-L与W2-H间亦差异显著.

模型组大鼠下丘脑中5-HT和5-HIAA含量较正常组明显降低(P<0.01, P<0.01), 5-HT转化率则明显升高(P<0.01). 与模型组比较, 各治疗组大鼠下丘脑组织中5-HT含量有不同程度升高, 除W1-L组外均有显著差异(P<0.01). PC组与W1-H组比较差异显著(P<0.05). 5-HIAA的含量较M组有不同程度的升高, W1-M、W2-M组差异显著(P<0.05, P<0.01). 5-HT转化率有不同程度的降低, 除W1-L组外差异显著(P<0.05, P<0.01); 1#方低高剂量组间有统计学差异(P<0.05).

表 3 各组大鼠脑组织中5-HT及5-HT变化率 (mean ± SD)

分组	海马			下丘脑			额叶		
	5-HIAA (ng/g)	5-HT (ng/g)	5-HT转化率(%)	5-HIAA (ng/g)	5-HT (ng/g)	5-HT转化率(%)	5-HIAA (ng/g)	5-HT (ng/g)	5-HT转化率(%)
NC	265.61 ± 21.06	280.26 ± 35.12	95.86 ± 13.21	668.40 ± 63.73	369.85 ± 47.23	182.30 ± 20.22	258.36 ± 40.93	280.75 ± 51.85	95.40 ± 26.32
M	343.54 ± 47.84^{b}	124.42 ± 18.52^{b}	281.92 ± 63.84^{a}	504.13 ± 42.56^{a}	198.58 ± 31.63^{b}	262.01 ± 65.67^{b}	425.46 ± 64.07^{b}	166.71 ± 58.64^{b}	268.36 ± 51.49^{b}
PC	269.28 ± 55.66^{d}	166.79 ± 35.16^{bc}	162.15 ± 11.57^{bd}	603.88 ± 61.90	317.04 ± 53.39^{d}	195.58 ± 40.71^{d}	305.61 ± 61.69^{d}	196.06 ± 26.39^{a}	157.06 ± 29.44^{c}
W1-L	351.97 ± 40.28^{bf}	162.88 ± 38.69^{b}	222.43 ± 37.16^{bd}	609.75 ± 89.58	258.45 ± 42.08^{b}	239.09 ± 39.68^{a}	339.95 ± 87.57^{ac}	191.17 ± 87.03^{b}	197.94 ± 79.39
W1-M	317.80 ± 23.94^{ae}	243.16 ± 47.50^{df}	134.69 ± 27.04^{c}	627.28 ± 59.18^{c}	303.51 ± 48.23^{ad}	209.43 ± 26.22^{c}	279.14 ± 25.39^{d}	260.87 ± 37.20^{de}	109.36 ± 21.84^{d}
W1-H	283.38 ± 40.74^{d}	295.03 ± 41.44^{df}	98.61 ± 24.65^{de}	722.69 ± 101.10	397.30 ± 64.64^{de}	184.55 ± 28.95^{d}	261.06 ± 42.49^{d}	302.75 ± 46.36^{df}	86.52 ± 9.26^{de}
W2-L	320.74 ± 39.90^{ae}	180.53 ± 16.59^{bd}	178.36 ± 23.18^{b}	642.89 ± 94.54	313.24 ± 74.53^{d}	212.88 ± 50.90^{c}	349.61 ± 56.55^{ac}	212.28 ± 40.97^{a}	167.50 ± 27.51^{a}
W2-M	321.93 ± 32.34^{ae}	250.28 ± 40.96^{df}	130.57 ± 18.72^{c}	633.87 ± 39.04^{d}	339.94 ± 55.15^{d}	189.56 ± 24.12^{d}	293.05 ± 62.28^{d}	254.65 ± 45.98^{d}	115.41 ± 16.69^{d}
W2-H	287.92 ± 31.24^{c}	303.61 ± 36.11^{df}	95.87 ± 15.77^{cf}	659.40 ± 124.99	353.02 ± 37.48^{d}	186.76 ± 27.42^{d}	261.75 ± 62.19^{d}	298.92 ± 70.55^{df}	88.47 ± 17.76^{de}

^{a}P<0.05, ^{b}P<0.01 *vs* NC组; ^{c}P<0.05, ^{d}P<0.01 *vs* M组; ^{e}P<0.05, ^{f}P<0.01 *vs* PC组. NC: 正常组; M: 模型组; PC: 阳性对照组; W1-H: 戊己丸1#方高剂量组; W1-M: 戊己丸1#方中剂量组; W1-L: 戊己丸1#方低剂量组; W2-H: 戊己丸2#方高剂量组; W2-M: 戊己丸2#方中剂量组; W2-L: 戊己丸2#方低剂量组. 5-HT: 5-羟色胺.

表 4 各组肥大细胞计数及脱颗粒百分率 (mean ± SD)

分组	肥大细胞(个/400HP)	脱颗粒率(%)
NC	3.80 ± 0.53	12.89 ± 3.78
M	10.47 ± 1.12^{b}	34.10 ± 3.97^{b}
PC	4.93 ± 1.17^{ad}	15.30 ± 3.22^{d}
W1-L	8.00 ± 1.01^{bdf}	27.85 ± 2.52^{bdf}
W1-M	6.40 ± 0.98^{bdf}	23.81 ± 2.54^{bdf}
W1-H	5.11 ± 1.07^{bd}	17.94 ± 3.39^{bd}
W2-L	8.17 ± 1.05^{bdf}	28.33 ± 2.18^{bdf}
W2-M	6.48 ± 0.75^{bdf}	23.25 ± 2.97^{bdf}
W2-H	5.57 ± 1.03^{bd}	19.19 ± 2.75^{bdf}

^{b}P<0.01 *vs* NC组; ^{d}P<0.01 *vs* M组; ^{f}P<0.01 *vs* PC组. NC: 正常组; M: 模型组; PC: 阳性对照组; W1-H: 戊己丸1#方高剂量组; W1-M: 戊己丸1#方中剂量组; W1-L: 戊己丸1#方低剂量组; W2-H: 戊己丸2#方高剂量组; W2-M: 戊己丸2#方中剂量组; W2-L: 戊己丸2#方低剂量组.

模型组大鼠额叶中5-HT含量较正常组明显降低(P<0.01), 5-HIAA含量和5-HT转化率则明显升高(P<0.01). 与模型组比较, 各治疗组大鼠额叶组织中5-HT含量有不同程度升高, W1-M、W1-H、W2-M和W2-H组有显著差异(P<0.01). W1-M, W1-H, W2-H组与PC组比较有明显差异(P<0.05, P<0.01). W1-L与W1-M, W1-H之间, W2-L与W2-H之间有显著差异. 治疗组5-HIAA的含量相对于M组有不同程度的降低, 差异显著(P<0.05, P<0.01). 1#方和2#低、高剂量间有统计学差异(P<0.05). 治疗组5-HT转化率有不同程度的降低, PC、W1-M、W1-H、W2-M、W2-H组差异显著(P<0.05, P<0.01). 戊己丸两个高剂量组较PC组下降更显著(P<0.05). 2#方低高剂量组间有统计意义(P<0.01).

2.3 结肠组织病理学观察结果 正常组的结肠黏膜形态完整, 肠黏膜上皮完整连续, 腺体排列规则, 结构清楚, 细胞形态未见异常, 固有层可见少量炎症细胞浸润. 模型组和各治疗组动物的结肠组织与正常组比较无明显差异.

2.4 各组大鼠近端结肠肥大细胞数量及脱颗粒率的变化 肥大细胞胞浆呈紫红色, 胞核呈蓝色, 主要分布在黏膜下层和黏膜肌层, 成群或成行排列, 或散在分布于血管、淋巴管及末梢神经周围, 细胞呈圆形、椭圆形、不规则形, 小细胞胞浆少, 边界清, 大细胞胞浆多, 边界不清, 紫红色颗粒围绕细胞核散在分布或呈不规则形.

■名词解释

脑-肠轴: 存在于胃肠道中的肠神经系统中可能含有传递自中枢神经系统至胃肠道的传入神经纤维和传递自胃肠道至中枢神经系统的传出神经纤维, 并通过交感和副交感神经相连接, 能通过各种神经递质(脑-肠肽)的释放和传递把胃肠道与中枢神经系统联系起来, 这一庞大而复杂的神经内分泌网络就是脑-肠轴.

■同行评价
本文研究方法较新颖, 对临床治疗PI-IBS有一定指导意义.

M组大鼠结肠黏膜下层的肥大细胞数与脱颗粒率较正常组明显增多(P<0.01). 与模型组比较, 各治疗组大鼠结肠黏膜组织中肥大细胞数目有不同程度降低, 差异显著(P<0.01). 1#方和2#方低中剂量组与PC组差异显著(P<0.01). 1#方和2#方3个剂量组间亦有统计学差异. 治疗组肥大细胞脱颗粒率亦有不同程度的降低, 差异显著(P<0.01). 治疗组中除W1-H外均与PC组有显著差异(P<0.01); 1#方和2#方3个剂量组间亦有统计学差异(表4).

3 讨论

戊己丸作为临床上常用于治疗肠易激综合征的有效方剂, 只有黄连、制吴茱萸和土炒白芍三味药组成, 其中黄连性苦寒, 主入脾、胃、肝、胆经, 善清热利湿、泻火解毒; 吴茱萸辛、苦、热, 有小毒, 主入肝、脾、胃、肾经, 可散寒止痛, 降逆止呕, 助阳止泻, 与黄连一寒一热, 相互佐制; 白芍性平味甘酸, 主入肝、脾经, 经土炒后药性转温, 可起到柔肝缓急止痛及补益肝脾的作用, 三药合用, 共达泻肝火和脾胃的作用. 现代研究表明: 黄连含多种生物碱, 主要是小檗碱, 又称黄连素, 具有广谱抗菌作用, 可通过提高髓过氧化物酶活性, 来降低葡聚糖硫酸钠诱导大鼠结肠损伤和结肠炎[6]. 吴茱萸水煎剂对大黄所引起的小鼠腹泻有明显的止泻效果, 且对离体肠肌具有双向调节作用[7], 其所含吴茱萸次碱尚具镇痛作用; 白芍对胃肠道具有调节胃肠运动、镇痛、抗病原微生物、抗应激等作用[8]; 白芍总苷可剂量依赖性的促进豚鼠离体结肠平滑肌收缩[9], 还可以减轻2,4,6-三硝基苯磺酸诱导的大鼠溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)的症状和炎性损伤, 有希望用于治疗UC[10-12]. 本实验所采用的PI-IBS大鼠模型的建立是在醋酸致结肠急性炎症的基础上, 在炎症恢复以后再施以束缚应激, 与人类PI-IBS的发病机制都存在着低水平炎症和心理应激这两个共同点, 与戊己丸的药理作用特点相符. 用戊己丸进行治疗后, 各治疗组大鼠结肠运动指数和运动指数变化率均较模型组有所下降, 但均未能降至正常水平, 高剂量的戊己丸1#方和戊己丸2#方与阳性对照药得舒特药效比较, 无统计学差异. 说明戊己丸不同配伍方对PI-IBS模型大鼠结肠运动功能具有确切的改善作用.

5-HT是广泛存在于消化系和脑的众多脑肠肽之一, 对脑-肠轴有重要的调节作用. 在胃肠道中, 5-HT作为神经递质以及旁分泌信号分子作用于5-HT受体, 能直接或者间接影响肠道的动力以及分泌功能, 从而改变肠道运动与内脏敏感性, 导致了IBS患者出现便秘或者腹泻、腹痛症状. 此外, 还能够刺激胆碱能神经元释放乙酰胆碱, 使胃肠道平滑肌收缩, 也能激活抑制硝基能的神经元释放一氧化氮, 使平滑肌松弛, 尚能参与迷走神经通路使胃松弛, 而肠嗜铬细胞释放的5-HT则激活胃肠道迷走神经和内在传入神经纤维, 使产生蠕动反射[13]. 在中枢神经系统, 5-HT可能参与痛觉、情绪等生理功能的调节, 其含量及功能异常可能与精神病和偏头痛等多种疾病的发病有关. 本实验结果显示: 经过戊己丸不同配伍方的治疗, 各中药治疗组大鼠血清和结肠中5-HT, 5-HIAA的含量均趋于正常. 中枢边缘系统中5-HT, 5-HIAA的含量亦有所改善, 提示戊己丸不同配伍方对PI-IBS模型大鼠结肠运动的治疗作用机制可能是通过调节结肠、血清、海马、下丘脑及额叶中5-HT、5-HIAA的含量, 从而起到治疗PI-IBS的作用, 其调节作用可能与脑-肠轴有关, 通过脑肠互动而达到的.

肥大细胞是一种能贮存和分泌多种介质的免疫细胞, 能在肠道中作为一种抗原感受器参与肠黏膜的局部免疫. 众多的研究表明, 肥大细胞和肠易激综合征有非常密切的关系: 首先, 不同亚型IBS患者的不同肠段可表现出不同程度的肥大细胞数目和活化程度的改变[14]; 其次, PI-IBS患者肠黏膜肥大细胞增多更明显[15-17], 可能是由于肠道感染和炎症激活了肥大细胞, 促使其释放了组胺、前列腺素、五羟色胺、白三烯等, 从而引发了一系列胃肠道不适症状; 第三, 肥大细胞是肠道局部神经-内分泌-免疫系统的重要调节点, 能将刺激的免疫反应信息传达到神经系统, 并接受神经系统的调控, 反馈靶器官产生免疫应答[18,19], 可能在IBS中表现出以动力改变、感觉异常为特征的病理生理过程; 此外, 肥大细胞还与心理应激和食物过敏有关. 本实验中戊己丸不同配伍方可使模型大鼠结肠黏膜肥大细胞数目和活化率下降, 说明戊己丸不同配伍方能改善模型大鼠结肠黏膜的肥大细胞数目和活化率的异常, 从而减轻IBS症状.

总之, 戊己丸不同配伍方能改善PI-IBS模型大鼠的结肠运动, 其作用机制可能是通过调节5-HT的含量及肥大细胞异常, 使脑-肠轴功能趋于正常, 从而使结肠运动恢复正常.

4 参考文献

1 Spiller R, Aziz Q, Creed F, Emmanuel A, Houghton L, Hungin P, Jones R, Kumar D, Rubin G, Trudgill N, Whorwell P. Guidelines on the irritable bowel syndrome: mechanisms and practical management. *Gut* 2007; 56: 1770-1798 [PMID: 17488783 DOI: 10.1136/gut.2007.119446]

2 王娅杰, 董宇, 朱晓新. 戊己丸提取物不同配伍方对豚鼠离体结肠运动影响的实验研究. 中国中药杂志 2007; 32: 2161-2165

3 La JH, Kim TW, Sung TS, Kang JW, Kim HJ, Yang IS. Visceral hypersensitivity and altered colonic motility after subsidence of inflammation in a rat model of colitis. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2791-2795 [PMID: 14669335]

4 Iwa M, Matsushima M, Nakade Y, Pappas TN, Fujimiya M, Takahashi T. Electroacupuncture at ST-36 accelerates colonic motility and transit in freely moving conscious rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 290: G285-G292 [PMID: 16254048 DOI: 10.1152/ajpgi.00068.2005]

5 赵焕英, 段春礼, 范春香, 刘琦, 张韬, 杨慧. 高效液相色谱同时检测生物样本中8种单胺类神经递质. 分析化学 2009; 37: 330-334

6 Yan F, Wang L, Shi Y, Cao H, Liu L, Washington MK, Chaturvedi R, Israel DA, Cao H, Wang B, Peek RM, Wilson KT, Polk DB. Berberine promotes recovery of colitis and inhibits inflammatory responses in colonic macrophages and epithelial cells in DSS-treated mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012; 302: G504-G514 [PMID: 22173918 DOI: 10.1152/ajpgi.00312.2011]

7 严春临, 张季, 薛贵平. 中药吴茱萸药理作用研究概况. 河北北方学院学报(医学版) 2009; 26: 78

8 李文艳, 黄山君, 王瑞. 中药白芍的药理作用和质量控制研究进展. 药学服务与研究 2012; 12: 118-122

9 杨小军, 李建军, 轩原清史, 魏睦新. 白芍总甙对豚鼠结肠平滑肌作用机制的研究. 中国中西医结合消化杂志 2002; 10: 151-153

10 周进. 白芍总苷对实验性结肠炎的影响及机制. 合肥: 安徽医科大学硕士论文, 2009: 23

11 王佐, 吴正祥, 杨九华, 杨枫, 吴强. 白芍总甙对大鼠实验性结肠炎Th17细胞相关因子的作用. 世界华人消化杂志 2010; 18: 84-88

12 吴慧丽, 李慧. 白芍总苷对溃疡性结肠炎大鼠细胞因子影响的研究. 中南药学 2010; 8: 128-131

13 何侠垠, 戴宁. 5-羟色胺与肠易激综合征关系的研究进展. 国际消化病杂志 2010; 30: 1-3

14 霍涛, 胡团敏. 肥大细胞与肠易激综合征关系的研究进展. 世界华人消化杂志 2011; 19: 494-497

15 Bercik P, Verdu EF, Collins SM. Is irritable bowel syndrome a low-grade inflammatory bowel disease? *Gastroenterol Clin North Am* 2005; 34: 235-245, vi-vii [PMID: 15862932 DOI: org/10.1016/j.gtc.2005.02.007]

16 Spiller RC. Inflammation as a basis for functional GI disorders. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2004; 18: 641-661 [PMID: 15324705 DOI: org/10.1016/j.bpg.2004.04.002]

17 Kim HS, Lim JH, Park H, Lee SI. Increased immunoendocrine cells in intestinal mucosa of postinfectious irritable bowel syndrome patients 3 years after acute Shigella infection--an observation in a small case control study. *Yonsei Med J* 2010; 51: 45-51 [PMID: 20046513 DOI: 10.3349/ymj.2010.51.1.45]

18 王利华, 方秀才, 潘国宗. 肠易激综合征患者肠黏膜肥大细胞与神经纤维的关联. 中华消化杂志 2003; 23: 332-335

19 董文珠, 李兆申, 邹多武, 许国铭, 邹晓平, 朱爱勇, 尹宁, 龚燕芳. 肠易激综合征患者肠黏膜肥大细胞与P物质的相关性. 中华内科杂志 2003; 42: 611-614

编辑 田滢 电编 鲁亚静

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

• 消息 •

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

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2013年5月8日; 21(13): 1234-1238
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

肠吉泰对腹泻型肠易激综合征大鼠下丘脑、结肠P物质mRNA表达的影响

丛 军, 蔡 淦, 林 江, 张正利

■背景资料
肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)的临床表现为腹痛或腹部不适伴排便习惯改变, 并且常规检查未发现可以解释上述症状的胃肠道功能性疾病, 其发病机制涉及胃肠动力、内脏感觉、炎症、感染、饮食、遗传、脑-肠轴神经内分泌等多个因素.

丛军, 蔡淦, 林江, 张正利, 上海中医药大学附属曙光医院消化科 上海市 200021
丛军, 主治医师, 主要从事功能性胃肠疾病中医药治疗的研究.
作者贡献分布: 此课题由丛军与蔡淦设计; 研究过程由丛军操作完成; 数据分析与论文写作由丛军、蔡淦、林江及张正利完成.
通讯作者: 蔡淦, 教授, 200021, 上海市普安路185号, 上海中医药大学附属曙光医院消化科. caiganp@126.com
收稿日期: 2012-11-23 修回日期: 2013-04-05
接受日期: 2013-04-12 在线出版日期: 2013-05-08

Effect of Changjitai decoction on expression of substance P mRNA in the colonic mucosa and hypothalamus of rats with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome

Jun Cong, Gan Cai, Jiang Lin, Zheng-Li Zhang

Jun Cong, Gan Cai, Jiang Lin, Zheng-Li Zhang, Department of Gastroenterology, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200021, China
Correspondence to: Gan Cai, Professor, Department of Gastroenterology, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, 185 Puan Road, Shanghai 200021, China. caiganp@126.com
Received: 2012-11-23 Revised: 2013-04-05
Accepted: 2013-04-12 Published online: 2013-05-08

Abstract

AIM: To detect the expression of substance P (SP) mRNA in the colonic mucosa and hypothalamus of rats with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome (IBS-D), and to assess the therapeutic effect of traditional Chinese medicine Changjitai decoction on visceral hypersensitivity in rats with IBS-D.

METHODS: Sixty male Sprague-Dawley rats were equally and randomly divided into six groups: normal group, model control group, dicetel group, low-, medium-, and high-dose Changjitai groups. IBS-D was induced by restraint stress for 2 wk combined with intragastric administration of 2 mL of Radix Rhizoma Rhei leachate from the third day in rats of all groups except the normal group. After treatment with corresponding drug for 2 wk, rats in the model group and treatment groups underwent colorectal distention immediately and then killed. The changes in defecation were monitored by measuring fecal pellets. The expression of SP mRNA in the hypothalamus and colon was detected by RT-PCR.

RESULTS: In the model control group, the frequency of defecation increased obviously compared to the normal group, and the characteristics of stools deteriorated simultaneously. The expression of SP mRNA in the hypothalamus and colon was significantly increased in the model group compared to the normal group (0.988 ± 0.192 *vs* 0.606 ± 0.151, $P < 0.01$; 1.042 ± 0.293 *vs* 0.768 ± 0.116, $P < 0.05$). After treatment with Changjitai decoction or diceter, the frequency of defecation and the characteristics of stools ameliorated significantly (13, 17, 14 *vs* 24, $P < 0.05$). There were no significantly differences in the above parameters between the Changjitai groups and dicetel group. SP mRNA levels were significantly reduced in the Changjitai decoction groups compared to the model control group (hypothalamus: 0.678 ± 0.103, 0.733 ± 0.103 *vs* 0.988 ± 0.192, $P < 0.01$; colon: 0.546 ± 0.278, 0.500 ± 0.260 *vs* 1.042 ± 0.293, both $P < 0.01$; 0.731 ± 0.199 *vs* 1.042 ± 0.293, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Changjitai decoction relieves diarrhea symptoms, ameliorates the stress state, inhibits bowel motility, and reduces visceral hypersensitivity in rats with IBS-D possibly by modulating the expression of SP mRNA in the hypothalamus and colon.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Diarrhea-predominant irritable bowel syndrome; Visceral hypersensitivity; Substance P; Changjitai decoction

Cong J, Cai G, Lin J, Zhang ZL. Effect of Changjitai decoction on expression of substance P mRNA in the colonic mucosa and hypothalamus of rats with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(13): 1234-1238 URL: http://

■同行评议者
刘占举, 教授, 同济大学附属上海市第十人民医院; 范恒, 主任医师, 教授, 博士生导师, 华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科

www.wjgnet.com/1009-3079/21/1234.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i13.1234

摘要

目的: 观察肠吉泰对腹泻型肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)大鼠下丘脑、结肠P物质mRNA表达的影响, 探讨其治疗机制.

方法: ♂SD大鼠60只, 随机分为正常组、模型组、肠吉泰低、中、高剂量组和得舒特组. 除正常组外各组大鼠予束缚应激加大黄泻下及结直肠扩张的造模方法, 并予以相应药物治疗. 实验过程中观察各组大鼠大便性状和次数; 大鼠处死后取下丘脑及结肠标本用RT-PCR半定量检测P物质mRNA的表达.

结果: 与正常组比较, 模型组大鼠的下丘脑、结肠P物质mRNA表达均有升高(0.988±0.192 *vs* 0.606±0.151, *P*<0.01; 1.042±0.293 *vs* 0.768±0.116, *P*>0.05); 与模型组比较, 肠吉泰治疗组大鼠P物质mRNA表达下调(下丘脑: 0.678±0.103, 0.733±0.103 *vs* 0.988±0.192, P<0.01; 结肠: 0.546±0.278, 0.500±0.260 *vs* 1.042±0.293, *P*<0.01; 0.731±0.199 *vs* 1.042±0.293, *P*<0.05). 得舒特组、肠吉泰高、中剂量组大便次数及性状明显改善(14、13、17 *vs* 24, *P*<0.05), 且肠吉泰与得舒特组比较疗效无显著差异.

结论: 肠吉泰通过调节大鼠下丘脑、结肠P物质mRNA表达量, 改善内脏痛觉敏感状态, 及其对束缚应激反应导致肠动力的紊乱.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 腹泻型肠易激综合征; 内脏高敏感; P物质; 肠吉泰

核心提示: 肠吉泰治疗腹泻型肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)经长期临床验证取得良好疗效, 能有效改善患者腹泻、腹痛症状, 前期实验研究已发现肠吉泰能调节腹泻型IBS大鼠内脏高敏感性. 本文进一步明确肠吉泰对P物质(substance P)、肥大细胞、5-羟色胺(5-hydroxy tryptamine)等内脏敏感性相关指标的影响具有一致性.

丛军, 蔡淦, 林江, 张正利. 肠吉泰对腹泻型肠易激综合征大鼠下丘脑、结肠P物质mRNA表达的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(13): 1234-1238 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1234.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i13.1234

0 引言

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一种常见的胃肠功能紊乱性疾病, 其发病机制目前尚不十分明确, 临床上缺乏有效的针对性药物治疗手段. 上海市名中医蔡淦教授的经验方肠吉泰治疗腹泻型IBS, 经临床验证取得良好疗效, 能有效改善患者的腹泻、腹痛症状. 本研究基于土虚木乘、抑木扶土的中医药理论指导, 以腹泻型IBS肝郁脾虚证模型大鼠为对象, 使用得舒特治疗作对照, 观察不同剂量肠吉泰对模型大鼠下丘脑及结肠P物质(substance P, SP)mRNA表达的影响, 并探讨其机制.

■研发前沿
近期许多观点认为, 以感觉异常和动力改变为特征的内脏高敏感性成为IBS的特征性指标, 调节IBS患者内脏感觉为IBS的治疗带来新途径.

1 材料和方法

1.1 材料 ♂SD大鼠60只, SPF级, 体质量200 g±10 g, 由西普尔-必凯实验动物有限公司提供, 许可证号: SCXK(沪)2003-0002, 合格证号: 0023082. 饲养于曙光医院清洁级实验动物房, 恒定温度湿度, 室内温度控制在20 ℃-25 ℃. 饲养期间每日8:00 AM-4:00 PM给予恒定灯光光线照射, 动物自由摄食及饮水. 实验前2 wk动物予以适应实验环境. TRIzol Reagent(Invitrogen), 购自上海普飞生物技术有限公司; RevertAid First Stand CDNA Synthesis Kit及2×PCR Master Mix(Fermentas)购自晶美生物工程有限公司; 溴化乙锭(EB)溶液、Agarose(LowEEO)购自北京秀百生物科技有限公司; 氯仿、异丙醇、无水乙醇(均分析纯级)、DEPC购自上海鼎国生物技术有限公司; 生大黄(产地甘肃)、肠吉泰原药等均购自上海曙光医院中、西药房. 得舒特(匹维溴胺)50 mg/粒(批号: 0020, 法国苏威制药)购自曙光国大药房. 隔水式电热恒温培养箱(PYX-DHS-40×50, 上海跃进医疗器械厂), PCR仪(PTC-200, 美国BIO-RAD DNA Engine); 紫外可见分光光度计(752s, 上海第三分析仪器厂); 电泳仪和电泳槽(DYY-7C, 北京市六一仪器厂); 低温高速离心机(5417R, 德国eppendorf centrifuge); 凝胶成像系统(FR-200, 复日科技紫外与可见光分析装置).

1.2 方法

1.2.1 药物制备: 肠吉泰方由陈皮、炒防风、炒白术、炒白芍、炙乌梅等药味组成, 全方生药含量48 g, 按公式换算[1], 煎成浓度分别为2.0 g/mL(大剂量)、1.0 g/mL(中剂量)、0.5 g/mL(小剂量)的药液. 生大黄2 kg以开水浸泡2 h后, 浸出液过滤后经低温旋蒸浓缩成200%的溶液, 每毫升含生药2 g, 过滤备用. 得舒特50 mg/粒, 据大鼠与人有效剂量换算, 制成浓度为3.12 mg/mL混悬

■相关报道
陈晓敏等研究IBS患者结肠黏膜中与痛觉和内脏高敏感相关的辣椒素受体VR1、P物质(substance P, SP)和肥大细胞的变化, 发现IBS患者乙状结肠辣椒素受体VR1、回盲部和乙状结肠SP免疫阳性反应细胞以及回盲部肥大细胞数量显著多于正常对照组, 且腹泻型IBS与便秘型IBS组间无明显差异, 并推测三者可能参与了IBS内脏高敏感的发生机制.

表 1 各组大鼠大便次数、性状变化比较 (mean ± SD, n = 10)

分组	1 h内大便性状/次数			
	成形便	软便	稀便	水样便
正常组	6	0	0	0
模型组	0[b]	8[b]	14[b]	2[b]
得舒特组	1[c]	5[c]	8[c]	0[c]
肠吉泰(高)	3[c]	5[c]	5[c]	0[c]
肠吉泰(中)	4[c]	7[c]	6[c]	0[c]
肠吉泰(低)	3	8	8	1

[b]P<0.01 *vs* 正常组; [c]P<0.05 *vs* 模型组.

液. 以上药物均由曙光医院中药制剂中心(国家中医药管理局三级实验室)制备后冷藏保存.

1.2.2 *动物模型制备及分组治疗*: 将60只大鼠随机分为6组, 每组10只, 即正常组、模型组、肠吉泰高、中、低剂量治疗组和得舒特组. 正常组和模型组大鼠每日予生理盐水1 mL灌胃1次; 肠吉泰高、中、低剂量治疗组大鼠分别予以相应浓度的肠吉泰煎剂1 mL(生药含量分别为2.0、1.0、0.5 g)灌胃, 1次/d; 得舒特组大鼠每日予得舒特混悬液1 mL(含生药3.12 mg)灌胃1次. 每日灌胃30 min后, 除正常组外各组大鼠均予束缚应激造模, 根据Williams等[2]的方法改良: 用绷带束缚大鼠前肩、前上肢及胸部, 限制前肢搔抓头面部, 但不控制其活动. 每日持续束缚1 h, 共2 wk. 造模第3天[3,4]开始, 大鼠解束缚后予200%生大黄溶液2 mL灌胃, 1次/d. 造模治疗期间记录大鼠的体质量、大便性状及行为学变化. 造模第14天大黄灌胃后, 各组大鼠均予禁食, 20 h后乙醚麻醉; 除正常组外各组大鼠进行结直肠扩张[4,5], 维持压力≥60 mmHg(不超过70 mmHg), 持续60 s, 间断放空球囊2 min, 反复10次. 结直肠扩张结束大鼠脱颈椎处死. 正常组大鼠不经结直肠扩张, 直接脱颈椎处死.

1.2.3 *观察指标及检测方法*: (1)大鼠行为学、体质量及大便次数、性状观察[6]: 造模期间观察大鼠大便性状及行为学变化. 记录大鼠造模前后体质量变化. 造模结束后, 单只大鼠关入钢丝笼1 h, 笼下垫滤纸, 观察其间大鼠大便次数和性状(成形便、软便、稀便、水样便的频数). 以粪便污染滤纸形成的污迹直径分级. <1 cm为成形便, 1-3 cm为软便, 3-5 cm为稀便, ≥5 cm为水样便; (2)大鼠下丘脑及结肠SP mRNA表达的测定(RT-PCR法): 根据文献报道设计[7], 由上海英骏生物科技有限公司合成引物的DNA序列如下: SP上游引物: 5'-ATGAAA ATCCTCGTGG CGGT-3'; SP下游引物: 5'-AATGGG CAAAC-GGGATGCTG-3'; β-actin上游引物: 5'-GT-GGGGCGCCCCAGGCACCA-3'; β-actin下游引物: 5'-CTTCCTTAATGTCACGCACGATTTC-3'. 采用TRIzol Reagent按操作程序提取下丘脑总RNA. 用紫外分光光度计检测260 nm、280 nm波长下的光亮度值, 计算总RNA的浓度及纯度. 将$A_{260/280}$ = 1.8-2.0的用于实验. 取2 μL RNA据RT试剂盒操作步骤进行RT反应合成cDNA. SP反应体系20 μL, 反应条件: 94 ℃变性, 56 ℃退火、72 ℃延伸, 35 cycles. 扩增片段长度: 220 bp. *β-actin*基因扩增反应体系25 μL, 反应条件94 ℃变性、55 ℃退火、72 ℃延伸, 循环数35 cycles; 扩增片段长度: 540 bp. PCR产物行2%琼脂糖凝胶电泳, 电压70 V. 凝胶成像系统对电泳条带进行光密度扫描. 以CRH扩增产物的吸光度与β-actin的吸光度的比值作为mRNA水平的参数, 对扩增样品的mRNA表达进行半定量分析.

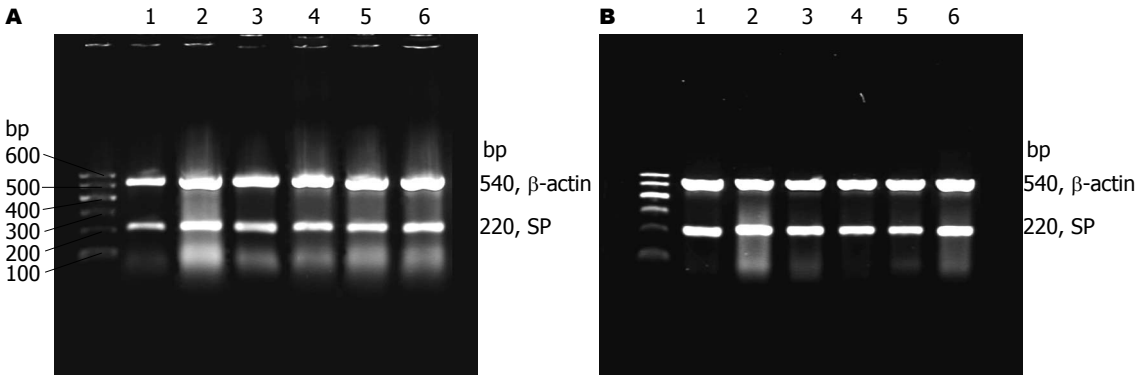
统计学处理 连续型变量以mean±SD表示, 组间比较采用SPSS13.0单因素方差分析(One-Way ANOVA), 经正态分布检验, 如果方差齐者采用LSD、SNK法, 方差不齐采用Tamhane's T2法. 单项有序变量比较采用秩和检验.

2 结果

2.1 *一般情况观察* 实验前各组动物活动、饮食正常, 造模过程中除正常组外的各组大鼠均出现少动蜷卧、嗜睡、毛色晦暗、进食减少、便溏、体质量减轻等脾虚证表现. 同时表现出对外界刺激兴奋减少、淡漠、情绪不稳定、反应迟缓等肝郁证表现. 以上症状在模型组表现更加突出. 与正常组比较, 模型大鼠1 h内大便次数显著增加、大便性状显著不成形(P<0.01). 与模型组比较得舒特组和肠吉泰高、中剂量组大鼠大便次数显著减少、性状显著改善(P<0.05, 表1).

2.2 *大鼠下丘脑、结肠P物质mRNA表达的变化* 与正常组比较, 其他各组大鼠下丘脑的SP mRNA表达均有升高, 其中模型组大鼠较正常组有极显著性差异(P<0.01), 肠吉泰低剂量组较正常组有显著差异(P<0.05), 而与模型组比较, 得舒特组和肠吉泰高、中剂量组的SP mRNA表达均降低, 有极显著性差异(P<0.01), 各治疗组之间比较无显著差异(P>0.05, 图1).

大鼠结肠的SP mRNA表达在模型组及得



■创新盘点

本课题旨在探索中药复方肠吉泰治疗腹泻型IBS的疗效机制. 结果表明肠吉泰能下调D-IBS大鼠下丘脑、结肠SP mRNA表达量, 改善内脏痛觉敏感状态.

图 1 各组大鼠下丘脑、结肠P物质及β-actin mRNA表达. A: 下丘脑SP及β-actin mRNA表达; B: 结肠SP及β-actin mRNA表达. 1: 正常组; 2: 模型组; 3: 得舒特组; 4-6: 肠吉泰高、中、低剂量治疗组. SP: P物质.

表 2 各组大鼠下丘脑、结肠P物质mRNA表达(SP/β-actin, mean ± SD, n = 5)

分组	下丘脑SP mRNA	结肠SP mRNA
正常组	0.606 ± 0.151	0.768 ± 0.116
模型组	0.988 ± 0.192[b]	1.042 ± 0.293
得舒特组	0.697 ± 0.141[d]	0.919 ± 0.122
肠吉泰高剂量组	0.678 ± 0.103[d]	0.546 ± 0.278[de]
肠吉泰中剂量组	0.733 ± 0.103[d]	0.500 ± 0.260[df]
肠吉泰低剂量组	0.822 ± 0.138[a]	0.731 ± 0.199[c]

[a]P<0.05, [b]P<0.01 *vs* 正常组; [c]P<0.05, [d]P<0.01 *vs* 模型组; [e]P<0.05, [f]P<0.01 *vs* 得舒特组. SP: P物质.

舒特组均有升高趋势, 但与正常组比较无显著差异(P>0.05). 各肠吉泰治疗组大鼠的结肠SP mRNA表达较正常组及模型组均有不同程度的降低, 其中肠吉泰高、中剂量组SP表达量与模型组比较明显降低, 具有显著性差异(P<0.01). 肠吉泰低剂量组与模型组有显著性差异(P<0.05), 并且肠吉泰高、中剂量组结肠SP与得舒特组比较亦有显著降低(P<0.05), 但各治疗组与正常组比较均无显著差异(P>0.05, 表2).

3 讨论

中医学根据临床表现, 将IBS归属于“泄泻”、“腹痛”、“郁证”等范畴, 主要病机是土虚木乘、肝脾不和. 诚如《医方考》所云: “泻责之于脾, 痛责之于肝, 肝责之于实, 脾责之于虚, 脾虚肝实, 故令痛泻”. 故而对本病的治疗多从抑肝扶脾着手. 中医药在治疗这一病证中有着悠久的历史, 优势明显, 我院上海市首届名中医蔡淦教授治疗IBS的经验方肠吉泰, 即是从治疗这一病证的经典方剂-痛泻要方发展而来, 根据“痛责之肝; 肝责之实”的理论, 加入甘草、乌梅两味药以柔肝缓急, 甘草配芍药即《伤寒论》止痛名方芍药甘草汤, 而乌梅味酸, 入肝, 合甘草酸甘化阴亦可益肝阴, 全方以柔肝健脾, 缓急止痛为法, 治疗腹泻型IBS取得良好疗效[8].

脑肠肽是一类同时存在于中枢神经系统和肠神经系统的胃肠肽类激素, 对胃肠运动和分泌起重要的调节作用. SP是第一个被发现的脑肠肽, 为速激肽家族中一个具有11个氨基酸的多肽, 主要分布于肠肌间神经丛和黏膜下神经丛, 储存于细的初级传入神经纤维内, 在细纤维受到刺激时可在传入神经的中枢和外周端末梢释放, 一方面参与痛觉信息的传递, 另一方面通过与其高亲和力受体(neurokonin1, NK1)结合对靶细胞发挥生物效应-调节胃肠道动力、腺体的分泌、血管渗透性以及疼痛刺激的敏感性, 因此被认为作为一种神经递质或调质在中枢和外周起作用[9-11]. 目前多数学者认为, SP是第一级伤害性传入纤维末梢释放的兴奋性神经递质, 在神经系统中, SP作为一种神经递质调节因子发挥作用, 对消化系平滑肌有强烈的刺激作用, 可增强胃肠蠕动[12]. 研究表明[13]应用SP和NK1激动剂能显著增加大鼠的内脏敏感性, 促进粪便排泄. 张瑜等[14]发现, SP阳性表达主要集中于结肠的肌肉纤维之间、结肠黏膜下层、腺体周围, 间质中, 胞浆着色, 在IBS患者结肠组织中的SP分布在愈近结肠腺体时愈加丰富、强度增强, 提示SP与结肠分泌功能有关. 本实验发现, 模型组大鼠下丘脑及结肠组织中的SP mRNA的表达量较正常组均有升高趋势(其中下丘脑P<0.05、结肠P>0.05), 而高、中剂量肠吉泰的肠吉泰对其有明显下调作用(P<0.05、P<0.01), 而且这一结果与各组大鼠排便次数及粪便性状的变化一致. 因此推测认为肠吉泰能通过对腹泻型IBS肝郁脾虚证模型大

■同行评价
本文研究了肠吉泰中药对腹泻性IBS大鼠模型中SP表达的影响和临床疗效, 为探讨中药的作用机制有重要理论意义.

鼠SP表达的调节, 发挥调节神经内分泌及胃肠道运动的作用, 并改善腹泻型IBS的内脏敏感状态. 陈晓敏等[15]研究IBS患者结肠黏膜中与痛觉和内脏高敏感相关的辣椒素受体VR1、SP和肥大细胞的变化，发现IBS患者乙状结肠辣椒素受体VR1、回盲部和乙状结肠SP免疫阳性反应细胞以及回盲部肥大细胞数量显著多于正常对照组, 且腹泻型IBS与便秘型IBS组间无明显差异, 并推测三者可能参与了IBS内脏高敏感的发生机制. 肖亚等[16]认为, SP可激活血小板释放5-羟色胺(5-hydroxy tryptamine, 5-HT), 激活肥大细胞释放组胺, 5-HT和组胺又能促使感觉神经末梢释放SP, 降低疼痛和感觉阈值. SP可能以循环激素的方式作用于乙状结肠平滑肌, 使其运动增强, 引起腹泻. 而我们既往的研究亦表明[17], 肠吉泰能调节腹泻性IBS大鼠结肠黏膜肥大细胞的稳定性, 降低结肠5-HT表达量, 与本实验中SP表达的变化相一致. 国内外研究表明[18-20]内脏高敏感性可能是IBS患者多种症状的原因, 调节IBS患者内脏感觉可能为IBS的治疗带来新途径, 而肠吉泰的药物组成与配伍起到柔肝缓急的作用, 从现代医学研究的角度分析, 正是调节内脏高敏感性的有力佐证.

4 参考文献

1 陈奇. 中药药理研究方法学. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 31
2 Williams CL, Villar RG, Peterson JM, Burks TF. Stress-induced changes in intestinal transit in the rat: a model for irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 1988; 94: 611-621 [PMID: 2828144]
3 乔明琦, 张惠云, 陈雨振, 韩秀珍, 姚泽贤, 刘长华, 宋承木. 肝郁证动物模型研究的理论思考. 中国医药学报 1997; 12: 42-44
4 韩秋艳. 肝郁脾虚证动物模型的建立. 贵阳中医学院学报 2001; 23: 59
5 郭玉婷, 李延青, 左秀丽, 郭宾, 张海燕, 卢雪峰, 李君曼. 肠易激综合征内脏感觉过敏动物模型的建立. 胃肠病学和肝病学杂志 2003; 12: 332-335
6 蔡淦, 张玉喜, 刘群, 雷云霞, 丛军, 张正利. 肝郁证、脾虚证、肝郁脾虚证下丘脑、蓝斑CRF含量变化研究. 上海中医药杂志 2006; 40: 1-3
7 许新芳, 林琳, 陈娟, 张红杰, 林征, 王美峰. 糖尿病大鼠结肠组织内P物质含量变化的含义. 中国临床康复 2006; 10: 94-97
8 李熠萌, 张亚楠, 蔡淦, 林江. 肠吉泰治疗腹泻型肠易激综合征的随机双盲安慰剂平行对照试验. 上海中医药杂志 2010; 44: 33-45
9 Holzer P, Holzer-Petsche U. Tachykinin receptors in the gut: physiological and pathological implications. *Curr Opin Pharmacol* 2001; 1: 583-590 [PMID: 11757813]
10 张世红, 赵晏. P物质的免疫调节作用. 生理科学进展 2002; 33: 235-238
11 夏德雨, 王景杰, 黄裕新. IBS神经机制研究现状及展望. 胃肠病和肝病学杂志 2008; 17: 503-505
12 陈晓敏, 张燕华, 吴跃龙. 肠易激综合征结肠黏膜P物质和血管活性肠肽变化的研究. 实用临床医药杂志 2008; 12: 48-50
13 Okano S, Nagaya H, Ikeura Y, Natsugari H, Inatomi N. Effects of TAK-637, a novel neurokinin-1 receptor antagonist, on colonic function in vivo. *J Pharmacol Exp Ther* 2001; 298: 559-564 [PMID: 11454917]
14 张瑜, 卜平, 孔桂美, 陈洁, 徐敏, 李娜. 肠易激综合征中医病证与肠胆囊收缩素、细胞癌基因fos、P物质的相关性. 中医杂志 2008; 49: 803-805
15 陈晓敏, 罗云, 吴跃龙, 江敏. 肠易激综合征患者结肠黏膜辣椒素受体、P物质和肥大细胞变化的研究. 胃肠病学 2010; 15: 672-675
16 肖亚, 熊艾君, 何文智, 唐春燕, 李亮. 痛泻要方对腹泻型肠易激综合征大鼠胃肠激素的影响. 中国当代医药 2010; 17: 20-22
17 丛军, 蔡淦, 张正利, 李莉. 肠吉泰对腹泻型肠易激综合征大鼠结肠肥大细胞变化和5-羟色胺表达的影响. 安徽中医学院学报 2010; 29: 47-51
18 肖晨, 王承党. 肠易激综合征内脏高敏感性发生机制中相关受体的作用. 国际消化病杂志 2011; 30: 28-31
19 颜秀娟, 陈胜良. 肠黏膜肥大细胞参与感染后肠易激综合征内脏高敏感机制的研究进展. 胃肠病学 2011; 16: 435-437
20 Piché M, Arsenault M, Poitras P, Rainville P, Bouin M. Widespread hypersensitivity is related to altered pain inhibition processes in irritable bowel syndrome. *Pain* 2010; 148: 49-58 [PMID: 19889500 DOI: 10.1016/j.pain.2009.10.005]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2013年5月8日; 21(13): 1239-1244
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

叶黄素对人结肠癌HT29细胞增殖的抑制及其机制

付 蕾, 陈晓哲, 张慧娟, 张源渊, 王凌飞, 徐少博, 张玉杰, 王明臣

付蕾, 陈晓哲, 张慧娟, 张源渊, 王凌飞, 徐少博, 张玉杰, 郑州大学药学院 河南省郑州市 450000
王明臣, 郑州大学基础医学院生物化学教研室 河南省郑州市 450000
付蕾, 副教授, 主要从事抗肿瘤药物细胞分子机制的研究.
河南省医学科技攻关基金资助项目, No. 20060078
作者贡献分布: 付蕾、陈晓哲及王明臣对此文贡献均等; 此课题由付蕾、陈晓哲及王明臣设计; 研究过程由付蕾、陈晓哲、张慧娟、张源渊、王凌飞、徐少博、张玉杰及王明臣操作完成; 研究所用试剂及分析工具由付蕾、陈晓哲及王明臣提供; 数据分析由陈晓哲完成; 本论文写作由付蕾、陈晓哲及王明臣完成.
通讯作者: 王明臣, 教授, 450000, 河南省郑州市高新区科学大道100号, 郑州大学基础医学院生物化学教研室.
wangmc@zzu.edu.cn
收稿日期: 2013-03-17 修回日期: 2013-03-22
接受日期: 2013-04-12 在线出版日期: 2013-05-08

Mechanisms underlying suppressive effect of lutein on cell proliferation in human colon cancer cell line HT29

Lei Fu, Xiao-Zhe Chen, Hui-Juan Zhang, Yuan-Yuan Zhang, Ling-Fei Wang, Shao-Bo Xu, Yu-Jie Zhang, Ming-Chen Wang

Lei Fu, Xiao-Zhe Chen, Hui-Juan Zhang, Yuan-Yuan Zhang, Ling-Fei Wang, Shao-Bo Xu, Yu-Jie Zhang, School of Pharmacy, Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, Henan Province, China
Ming-Chen Wang, Basic Medical College, Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, Henan Province, China
Supported by: the Medical Science and Technology Foundation of Henan Province, No. 20060078
Correspondence to: Ming-Chen Wang, Professor, Basic Medical College, Zhengzhou University, Kexue Road 100, Gaoxin District, Zhengzhou 450000, Henan Province, China. wangmc@zzu.edu.cn
Received: 2013-03-17 Revised: 2013-03-22
Accepted: 2013-04-12 Published online: 2013-05-08

Abstract

AIM: To study the anti-proliferative effect of lutein on human colon cancer HT29 cells and to explore the possible mechanisms involved.

METHODS: HT29 cells were treated with different concentrations of lutein (20, 40, 80, 160 mg/L) for 24, 48 or 72 h. After treatment, cell proliferation was detected by SRB assay, cell cycle progression was analyzed by flow cytometry, cell apoptosis was detected by fluorescence microscopy and Hoechst 33342/PI staining, and the levels of p-ERK and p-p38 proteins were determined by Western blot.

RESULTS: Lutein treatment inhibited the proliferation of HT29 cells in a dose- and time-dependent manner. After treatment of HT29 cells with lutein (80 mg/L) for 48 h, the percentage of cells at G_0/G_1 phase cells increased from 58.67% to 63.23%, and with the increase in drug concentration, the percentage of cells at G_0/G_1 phase increased significantly. When the lutein concentration was 160 mg/L, the percentage of cells at G_0/G_1 phase increased to 70.81%, indicating that lutein arrested HT29 cells in G_0/G_1 phase. Fluorescence microscopy and Hoechst 33342/PI staining suggested that lutein induced HT29 cell apoptosis in a dose-dependent manner. Western blot analysis showed that lutein down-regulated the expression of p-ERK and up-regulated the expression of p-p38 protein in dose-dependent manner (both $P < 0.01$).

CONCLUSION: Lutein could significantly inhibit the proliferation of HT29 cells, induce apoptosis, and arrest cell cycle in G_0/G_1 phase. Down-regulation of p-ERK protein expression and up-regulation of p-p38 protein expression may be important mechanisms responsible for the apoptosis-inducing effect of lutein.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Lutein; Colon cancer; Proliferation; p-ERK; p-p38

Fu L, Chen XZ, Zhang HJ, Zhang YY, Wang LF, Xu SB, Zhang YJ, Wang MC. Mechanisms underlying suppressive effect of lutein on cell proliferation in human colon cancer cell line HT29. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(13): 1239-1244 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1239.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i13.1239

摘要

目的: 研究叶黄素对结肠癌HT29细胞的增殖抑制作用及可能的机制.

■背景资料
结肠癌是常见的消化系恶性肿瘤, 常规的治疗方法有手术切除, 放疗和化疗, 这些方法治愈率低, 而且给人体造成一定的不良反应和产生化疗药耐性, 因此寻找一种高效低毒的天然植物药物对结肠癌的治疗具有重要的临床意义.

■同行评议者
白雪, 副主任医师, 中国人民解放军北京军区总医院普通外科; 周晓武, 副主任医师, 中国人民解放军空军总医院普外科

■研发前沿
叶黄素是一种含氧类胡萝卜素，在抗氧化、预防白内障、延缓动脉硬化以及抗癌等方面有重要作用，研究表明，叶黄素对乳腺癌、结肠癌、食管癌、前列腺癌等多种癌症具有抑制作用.

方法: 用不同浓度的叶黄素(20、40、80、160 mg/L)和空白对照组(0 mg/L)干预处理培养的HT29细胞24、48、72 h, 采用SRB法检测其对该细胞的增殖抑制作用; 流式细胞仪检测细胞周期; Hoechst33342/PI荧光染色法检测细胞凋亡; Western blot检测磷酸化ERK(phosphorylation of ERK, p-ERK)、磷酸化p38(phosphorylation of p38, p-p38)蛋白表达水平的变化.

结果: 叶黄素能抑制HT29细胞增殖, 且有明显的剂量和时间依赖性. 流式细胞仪检测细胞周期结果显示, 叶黄素(80 mg/L)干预处理HT29细胞48 h后, G_0/G_1期细胞由58.67%增加至63.23%, 且随药物浓度增加, G_0/G_1期细胞显著增加, 当叶黄素浓度为160 mg/L时, G_0/G_1期细胞增加至70.81%, 表明叶黄素可将HT29细胞阻滞在G_0/G_1期; Hoechst33342/PI荧光染色法检测细胞凋亡结果显示, 叶黄素可诱导HT29细胞凋亡; Western blot 检测结果显示叶黄素可下调p-ERK、上调p-p38蛋白的表达, 有浓度依赖性(P<0.01).

结论: 叶黄素可显著抑制HT29细胞的增殖并诱导其凋亡, 使细胞周期阻滞在G_0/G_1期; 下调p-ERK蛋白、上调p-p38蛋白的表达可能是其诱导细胞凋亡的重要机制.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: **叶黄素**; **结肠癌**; **增殖**; p-ERK; p-p38

核心提示: 叶黄素可显著抑制HT29细胞的增殖并诱导其凋亡, 使细胞周期阻滞在G_0/G_1期; 下调磷酸化ERK蛋白、上调磷酸化p38蛋白的表达可能是其诱导细胞凋亡的重要机制.

付蕾, 陈晓哲, 张慧娟, 张源渊, 王凌飞, 徐少博, 张玉杰, 王明臣. 叶黄素对人结肠癌HT29细胞增殖的抑制及其机制. 世界华人消化杂志 2013; 21(13): 1239-1244 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1239.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i13.1239

0 引言

结肠癌是一种常见的恶性肿瘤. 随着人们生活方式和膳食结构的改变, 结肠癌的发病率呈逐年上升趋势[1]. 目前结肠癌的主要治疗手段是根治性手术切除, 辅以放疗、化疗等综合治疗, 但是结肠癌手术病例中早期癌比例较低, 术后总体生存率较低, 放疗和化疗会对人体造成一定的不良反应, 而且可能产生化疗耐药性. 因此寻找一种高效低毒的天然植物药物对结肠癌的干预阻断防治具有重要的理论意义和实用价值. 叶黄素(lutein)是存在于膳食中的一种含氧类胡萝卜素, 其作为一种肯定的抗氧化剂, 在预防白内障、黄斑变性、心血管疾病及肿瘤的发生发展等方面有重要的作用[2]. 已有研究表明, 叶黄素对乳腺癌、食管癌、皮肤癌、前列腺癌等多种肿瘤具有抑制作用. 本研究旨在探讨叶黄素对人结肠癌HT29细胞的增殖抑制作用及可能机制, 为叶黄素用于结肠癌的干预防治提供初步的实验依据.

1 材料和方法

1.1 材料 人结肠癌细胞株HT29由郑州大学生物工程系馈赠; 叶黄素由Food Research Program, Agriculture and Agri-Food Canada提供, 用DMSO溶解制成储备液, 使用时稀释到适当浓度; 细胞凋亡荧光Hoechst33342/PI双染试剂盒购自凯基生物公司; complete蛋白酶抑制剂混合片, PhosSTOP磷酸酶抑制剂混合片购自美国Roche公司; β-actin(兔抗人), p-ERK(兔抗人), p-p38(兔抗人)购自Santa Cruz Biotechnology, INC公司.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: 将人结肠癌HT29细胞株常规培养于含体积分数为10%灭活小牛血清的RPMI 1640培养基中, 置于37 ℃、5%CO_2浓度和饱和湿度的培养箱中培养.

1.2.2 SRB法检测叶黄素对HT29细胞增殖的影响: 取对数生长期的HT29细胞接种于96孔培养板, 调整细胞密度为3×10^4个/mL, 每孔200 μL, 培养24 h后, 分别加入终浓度为20、40、80、160 mg/L的叶黄素溶液, 同时设DMSO溶剂对照组, 每组6个复孔, 重复3次. 叶黄素分别作用细胞24、48、72 h后SRB染色, 酶标仪515 nm的波长下测得各孔A值. 抑制率(%) = (对照组A值-实验组A值)/对照组A值×100%.

1.2.3 流式细胞仪检测叶黄素对细胞周期的影响: 取对数生长期的HT29细胞, 0.25%胰酶消化分散后, 以1×10^5个/孔接种于6孔细胞培养板中. 培养24 h贴壁后, 分别加入终浓度为80、160 mg/L的药物, 设DMSO溶剂对照组, 药物作用48 h后, 收集细胞, 1000 r/min离心5 min, PBS洗涤2次, 70%冰乙醇1 mL重悬细胞, 4 ℃固定24 h以上. 依照细胞周期检测试剂盒说明书操作, 12000 r/min离心5 min弃去冰乙醇, PBS洗2次, 加入100 μL 0.1%的Trito X-100, 室温孵育20 min, 20 mg/L Rnase

表 1 不同浓度叶黄素对结肠癌HT29细胞增殖的影响 (n = 6, mean ± SD)

分组	24 h		48 h		72 h	
	*A*值	抑制率(%)	*A*值	抑制率(%)	*A*值	抑制(%)
对照组	0.217 ± 0.029	–	0.341 ± 0.049	–	0.658 ± 0.052	–
20 mg/L组	0.214 ± 0.032	1.51	0.330 ± 0.037	3.39	0.604 ± 0.071	8.14
40 mg/L组	0.206 ± 0.053	5.14	0.263 ± 0.022[a]	22.96	0.504 ± 0.075[b]	23.35
80 mg/L组	0.152 ± 0.031[b]	30.21	0.224 ± 0.021[b]	34.44	0.307 ± 0.039[b]	53.36
160 mg/L组	0.124 ± 0.010[b]	43.10	0.108 ± 0.024[b]	68.34	0.123 ± 0.019[b]	81.37

[a]P<0.05, [b]P<0.01 *vs* 对照组.

表 2 不同浓度叶黄素对结肠癌HT29细胞周期分布的影响 (n = 3, mean ± SD, %)

分组	G_0/G_1	S	G_2/M
对照组	58.67 ± 0.80	31.31 ± 1.93	10.02 ± 1.16
80 mg/L组	63.23 ± 2.23	25.25 ± 1.75	11.52 ± 1.12
160 mg/L组	70.81 ± 2.00[b]	16.42 ± 1.34[b]	12.77 ± 1.53

[b]P<0.01 *vs* 对照组.

100 μL, 孵育20 min, 20 mg/L的碘化丙啶(PI) 50 μL, 室温避光标记5 min, 上机检测.

1.2.4 Hoechst33342/PI双染法检测细胞凋亡: 取对数生长期的细胞, 按1×10^{5}个/孔接种于6孔培养板中, 常规培养24 h后, 设药物浓度为20、40、80、160 mg/L, DMSO为溶剂对照组, 48 h后, 离心收集细胞, 将10^5-10^{6}个细胞悬浮于1 mL培养基中, 加入10 μL Hoechst 33342染液, 37 ℃孵育10 min, 4 ℃, 1000 r/min离心5 min, 弃上清, 1mL Buffer A悬浮细胞, 加入5 μL PI染液, 室温避光放置10 min后混匀. 荧光显微镜下拍照, 并用尼康NIS-Elements BR图像分析软件进行分析.

1.2.5 Western blot检测p-ERK、p-p38蛋白的表达: 取对数生长期的细胞接种于6孔板中, 次日加入终浓度分别为20、40、80、160 mg/L的叶黄素, 对照组为DMSO溶剂组, 48 h后, 每孔加入90 μL细胞裂解液(RIPA: 磷酸酶抑制剂: 蛋白酶抑制剂 = 100∶10∶4), 冰上裂解30 min, 然后4 ℃, 12000 r/min离心15 min, 上清液即为总蛋白. BCA蛋白试剂盒定量, 总蛋白与SDS-PAGE蛋白上样缓冲液4∶1混合后, 煮沸5 min, 120 V恒压电泳, 300 mA恒流转膜, 一抗(1∶2000, 兔抗人p-ERK; 1∶1000, 兔抗人p-p38)4 ℃孵育过夜, 二抗(1∶10000, HRP标记的羊抗兔抗体), 室温条件下孵育2 h, ECL发光剂发光, 显影, 定影. 并用软件Image proplus 6.0比较条带的积分光密度(integrated optical density, IOD).

统计学处理 实验数据用mean±SD表示, 采用SPSS17.0软件进行统计分析. 多组间比较采用单因素方差分析, 组间比较采用LSD检验, 检验水准α = 0.05, P<0.05为有统计学意义, P<0.01为有显著性差异.

2 结果

2.1 叶黄素对HT29细胞的增殖抑制作用 叶黄素(浓度为40、80、160 mg/L)作用HT29细胞72 h后能显著抑制细胞的增殖, 且呈现时间、剂量依赖性(P<0.01, 表1).

2.2 叶黄素对HT29细胞周期的影响 流式细胞术检测结果显示, 当叶黄素(80 mg/L)干预处理HT29细胞48 h后, G_0/G_1期细胞由58.67%增加至63.23%, 且随药物浓度增加, G_0/G_1期细胞显著增加, 当叶黄素浓度为160 mg/L时, G_0/G_1期细胞增加至70.81%, 表现显著的G_1期阻滞(P<0.01). 同时, 随叶黄素浓度增加, S期细胞显著减少, G_2/M期细胞变化不明显. 结果表明叶黄素可阻滞HT29细胞于G_0/G_1期(图1, 表2).

2.3 叶黄素对HT29细胞凋亡的影响 Hoechst33342/PI染色后, 根据细胞被染成不同的颜色分辨出正常细胞、凋亡细胞和坏死细胞, 正常细胞为低蓝光/低红光, 早期凋亡细胞为高蓝光/低红光, 晚期凋亡或坏死细胞为低蓝光/高红光. 由图1和表2结果显示, 对照组显示低蓝光/低红光, 为正常细胞, 当药物浓度为80 mg/L时, 显示高蓝光/低红光, 说明大量细胞凋亡, 坏死细胞不明显, 160 mg/L显示低蓝光/高红光, 说明晚期凋亡和坏死细胞都增多. 随着药物浓度的增加, 荧光强度逐渐增强, 结果表明, 叶黄素可诱导HT29细胞凋亡, 且有剂量依赖性(图2, 表3).

■相关报道
磷酸活化的ERK可介导c-Jun、c-fos、AP-1等转录因子的活化, 参与细胞的增殖、分化、细胞骨架的构建、细胞形态维持和细胞凋亡等多种生物学反应. p38MAPK可通过调节p53、Bax、caspase-9和caspase-3等因子启动抗细胞增殖及凋亡作用.

■创新盘点
本文从MAPK信号通路中ERK和p38磷酸化的表达变化，来观察叶黄素抑制结肠癌HT29细胞增殖及诱导细胞凋亡的作用，并探讨其可能的分子机制.

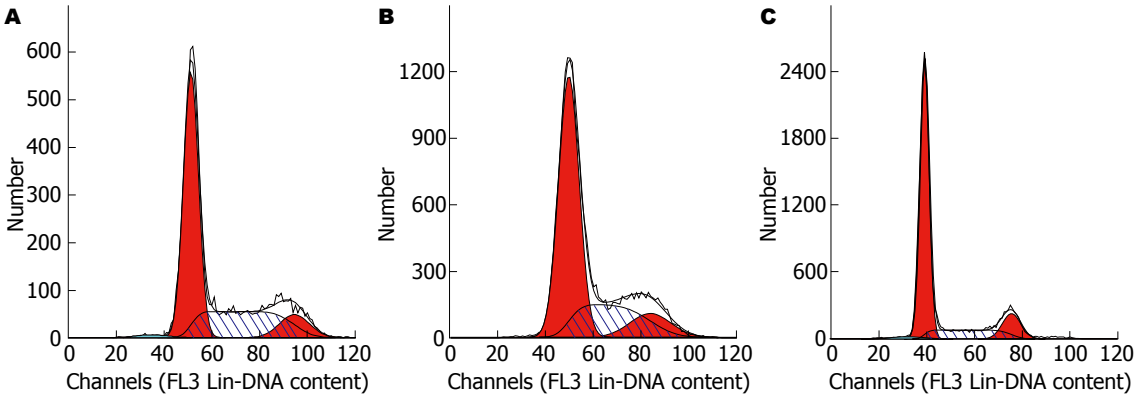


图 1 不同浓度叶黄素对结肠癌HT29细胞周期的影响. A: 对照组; B: 80 mg/L组; C: 160 mg/L组.

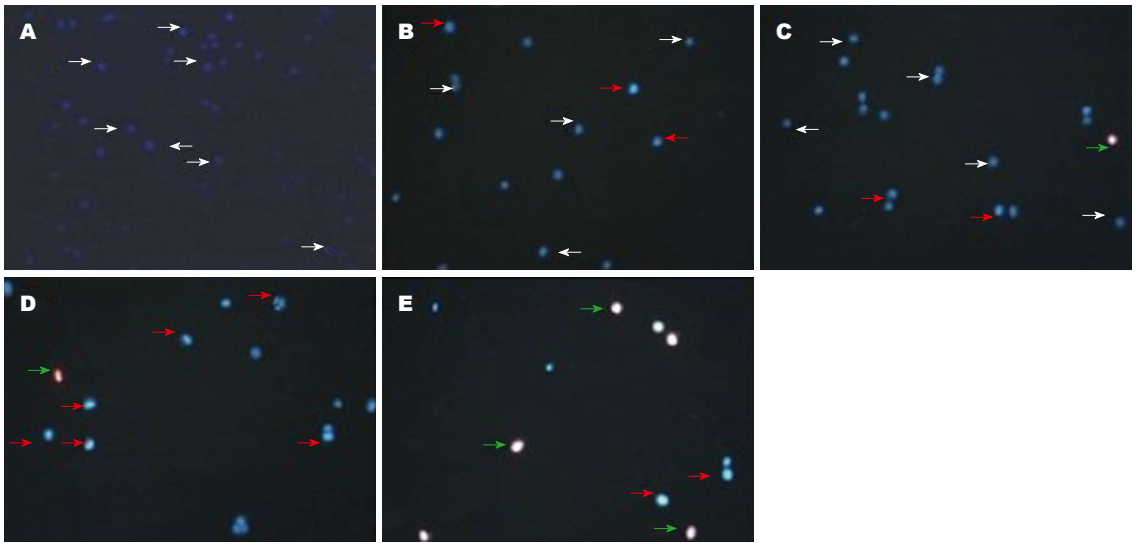


图 2 不同浓度叶黄素对HT29细胞凋亡的影响(×100). A: 对照组; B: 20 mg/L组; C: 40 mg/L组; D: 80 mg/L组; E: 160 mg/L组; 白色箭头表示正常细胞; 红色箭头表示早期凋亡细胞; 绿色箭头表示晚期凋亡或坏死细胞.

表 3 不同浓度叶黄素对HT29细胞荧光强度的影响 (n = 3, mean ± SD)

分组	蓝光	红光
对照组	72.532 ± 10.615	37.472 ± 14.285
20 mg/L组	94.327 ± 17.138[b]	40.026 ± 10.337
40 mg/L组	126.719 ± 25.824[b]	47.331 ± 17.592[a]
80 mg/L组	135.673 ± 18.252[b]	70.203 ± 16.284[b]
160 mg/L组	147.263 ± 20.374[b]	133.845 ± 22.761[b]

[a]P<0.05, [b]P<0.01 *vs* 对照组.

2.4 叶黄素对HT29细胞p-ERK、p-p38蛋白表达的影响 对照组、20、40、80、160 mg/L叶黄素对HT29细胞p-ERK蛋白表达的相对灰度值分别为: 0.912、0.644、0.517、0.361、0.079. p-p38蛋白的相对灰度值分别为: 0.194、0.218、0.386、0.749、0.856. 结果显示, 不同浓度的叶黄素处理HT29细胞48 h后, p-ERK的蛋白水平均显著降低(P<0.01), p-p38蛋白水平升高(P<0.01). 叶黄素可明显抑制ERK的磷酸化和激活p38的磷酸化, 且有良好的剂量依赖关系(图3).

3 讨论

叶黄素是含氧类胡萝卜素. 流行病学调查表明, 饮食中叶黄素的摄入与多种肿瘤的发生呈负相关. Slattery等[3]研究表明叶黄素能降低结肠癌的发病率. 本研究结果亦显示, 叶黄素对结肠癌HT29细胞亦有显著的增殖抑制作用, 且呈时间和剂量依赖性. 进一步对叶黄素的增殖作用机制分析表明, 叶黄素可使HT29细胞周期阻滞在G_0/G_1期. 近年研究发现, 细胞周期调控异常与肿瘤密切相关[4]. 在细胞增殖周期中, G_0/G_1期、S期和G_2/M期之间存在着影响细胞周期进行的调控点, 而药物可能通过影响这些调控点来影响

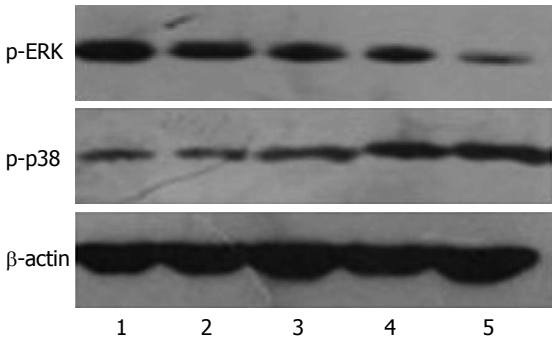


图 3 不同浓度叶黄素对HT29细胞p-ERK、p-p38蛋白表达的影响. 1: 对照组; 2: 20 mg/L组; 3: 40 mg/L组; 4: 80 mg/L组; 5: 160 mg/L组.

细胞的增殖, 不同的药物可影响细胞周期的不同阶段[5,6]. 叶黄素对细胞周期的阻滞可能是其对HT29细胞增殖抑制作用的机制之一. 细胞凋亡是由死亡信号诱发的受调控的一种细胞死亡过程, 是一种细胞生理性死亡的方式. 凋亡与增殖密切相关, 细胞的增殖和凋亡调节失控是肿瘤发生的主要原因[7]. 本研究结果显示, 随叶黄素剂量的增加, 细胞凋亡和坏死数目增多, 荧光强度增强, 表明叶黄素可剂量依赖的诱导HT29细胞凋亡, 可能是叶黄素抑制HT29细胞增殖的另一重要机制.

MAPK信号途径介导真核细胞增殖、分化及凋亡等多种生物学反应[8], 是研究较多的蛋白激酶级联通路, 主要有3个成员: ERK、p38和JNK/SAPK. 研究表明, 许多刺激因子, 如表皮生长因子可通过Ras/Raf/MEK/ERK途径磷酸活化ERK, 活化的ERK(p-ERK)将胞浆内信号导入胞核, 作用于c-Jun、c-fos、c-Myc等转录因子, 促进多种癌基因及细胞周期调节相关基因的表达[9]. 病理条件下, ERK信号通路的过渡激活与肿瘤细胞的恶性增殖密切相关, 在乳腺癌、肝癌等多种肿瘤中ERK具有高水平的磷酸化[10]. 本研究表明叶黄素可下调HT29细胞ERK蛋白的磷酸化水平. p38信号通路是MAPK通路的一个重要分支. 在环境应激因子和凋亡等信号作用下, p38通路被激活成磷酸化的p38[11,12]. 研究表明, p38MAPK可通过调节p53、Bax、caspase-9和caspase-3等因子启动抗增殖及凋亡作用[13]. 许多药物包括白藜芦醇[14]、类视黄醇等, 可通过活化p38介导肿瘤细胞的死亡启动过程. 磷酸化的p38MAPK能通过激活p53、ATF-2、CHOP-1和其他转录因子导致细胞周期停滞、凋亡等[15]. 本研究结果表明, 叶黄素可上调HT29细胞的p38蛋白的磷酸化水平, 且有剂量依赖性. 综合上述结果, 叶黄素可显著抑制结肠癌HT29细胞增殖, 阻滞细胞周期在G_0/G_1期, 并可诱导HT29细胞凋亡, 且其机制可能是通过下调ERK蛋白的磷酸化水平, 上调p38蛋白磷酸化水平而介导的. 但是细胞内凋亡相关的信号通路存在复杂的交叉对话, 叶黄素导致ERK和p38MAPK蛋白表达变化的始动信号以及其下游信号的表达如何, 有待深入研究.

■应用要点
下调ERK的磷酸化水平和/或上调p38的磷酸化水平, 可能是叶黄素抑制结肠癌HT29细胞增殖并诱导细胞凋亡的机制之一, 本研究为进一步研究叶黄素抗肿瘤的作用机制提供依据.

4 参考文献

1 梅庆步, 赵忠新, 郑立红, 陈萍, 刘丹. 染料木黄酮对人结肠癌SW620细胞生长的抑制. 世界华人消化杂志 2013; 21: 619-623
2 Roberts RL, Green J, Lewis B. Lutein and zeaxanthin in eye and skin health. *Clin Dermatol* 2009; 27: 195-201 [PMID: 19168000 DOI: 10.1016/j.clindermatol.2008.01.011]
3 Slattery ML, Benson J, Curtin K, Ma KN, Schaeffer D, Potter JD. Carotenoids and colon cancer. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 575-582 [PMID: 10648274]
4 Rodriguez-Nieto S, Zhivotovsky B. Role of alterations in the apoptotic machinery in sensitivity of cancer cells to treatment. *Curr Pharm Des* 2006; 12: 4411-4425 [PMID: 17168751 DOI: 10.2174/138161206779010495]
5 郭宇飞, 李新毅, 郭芬, 曹杜鹃. 中药远志对D-半乳糖致衰大鼠学习记忆及海马LTP的影响. 中国老年学杂志 2011; 31: 632-634
6 关彩宣, 孙女内, 曲鹏, 张朝东. 鹅膏蕈氨酸对大鼠海马神经元的毒性作用.中国公共卫生 2006; 22: 1115-1116
7 Chlapek P, Redova M, Zitterbart K, Hermanova M, Sterba J, Veselska R. Enhancement of ATRA-induced differentiation of neuroblastoma cells with LOX/COX inhibitors: an expression profiling study. *J Exp Clin Cancer Res* 2010; 29: 45 [PMID: 20459794 DOI: 10.1186/1756-9966-29-45]
8 Deng W, Sui H, Wang Q, He N, Duan C, Han L, Li Q, Lu M, Lv S. A Chinese herbal formula, Yi-Qi-Fu-Sheng, inhibits migration/invasion of colorectal cancer by down-regulating MMP-2/9 via inhibiting the activation of ERK/MAPK signaling pathways. *BMC Complement Altern Med* 2013; 13: 65 [PMID: 23506655 DOI: 10.1186/1472-6882-13-65]
9 Cagnol S, Chambard JC. ERK and cell death: mechanisms of ERK-induced cell death--apoptosis, autophagy and senescence. *FEBS J* 2010; 277: 2-21 [PMID: 19843174 DOI: 10.1111/j.1742-4658.2009.07366.x]
10 Meier F, Schittek B, Busch S, Garbe C, Smalley K, Satyamoorthy K, Li G, Herlyn M. The RAS/RAF/MEK/ERK and PI3K/AKT signaling pathways present molecular targets for the effective treatment of advanced melanoma. *Front Biosci* 2005; 10: 2986-3001 [PMID: 15970553]
11 Kim BJ, Ryu SW, Song BJ. JNK- and p38 kinase-mediated phosphorylation of Bax leads to its activation and mitochondrial translocation and to apoptosis of human hepatoma HepG2 cells. *J Biol Chem* 2006; 281: 21256-21265 [PMID: 16709574 DOI: 10.1074/jbc.M510644200]

■同行评价
本文研究的有关叶黄素与结肠癌关系的研究目前国内报道甚少, 研究本身具有重要的研究意义. 本文设计严密, 结果可靠, 结论可信, 讨论得当.

12 李宁, 陈娟, 白研, 白文元. p38MAPK信号转导通路在EGF诱导食管腺癌SEG-1细胞表达u-PA中的作用. 世界华人消化杂志 2012; 20: 1458-1462
13 Yu E, Ahn YS, Jang SJ, Kim MJ, Yoon HS, Gong G, Choi J. Overexpression of the wip1 gene abrogates the p38 MAPK/p53/Wip1 pathway and silences p16 expression in human breast cancers. *Breast Cancer Res Treat* 2007; 101: 269-278 [PMID: 16897432 DOI: 10.1007/s10549-006-9304-y]
14 张亚宏, 郭敬功, 郭子华, 谢松强. 白藜芦醇通过激活p38-p53通路诱导人乳腺癌MCF-7细胞凋亡. 药学学报 2011; 46: 1332-1337
15 邱建武, 郭薇, 申丽娟. p38MAPK在肝细胞癌中的研究进展. 世界华人消化杂志 2008; 16: 503-509

编辑 田滢 电编 鲁亚静

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》正文要求

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

世界华人消化杂志 2013年5月8日; 21(13): 1245-1249
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

老年胃食管反流病患者食道动力及胃食管反流的特点

孙莎莎, 张 琪, 赵 坤, 张翠萍, 田字彬

孙莎莎, 张琪, 赵坤, 张翠萍, 田字彬, 青岛大学医学院附属医院消化内科 山东省青岛市 266003
孙莎莎, 在读硕士, 主要从事食管测压方面的研究.
作者贡献分布: 孙莎莎与张翠萍对此文所作贡献均等; 此课题由孙莎莎、张翠萍及张琪设计; 研究过程由孙莎莎与赵坤操作完成; 研究所用仪器由田字彬提供; 数据分析由孙莎莎与赵坤操作完成; 论文写作由孙莎莎、张琪及张翠萍完成.
通讯作者: 张翠萍, 教授, 266003, 山东省青岛市江苏路16号, 青岛大学医学院附属医院消化内科. rose201001@126.com
电话: 0532-82911304
收稿日期: 2013-02-23 修回日期: 2013-03-26
接受日期: 2013-04-12 在线出版日期: 2013-05-08

Characteristics of esophageal motility and esophageal acid exposure in elderly patients with gastroesophageal reflux disease

Sha-Sha Sun, Qi Zhang, Kun Zhao, Cui-Ping Zhang, Zi-Bin Tian

Sha-Sha Sun, Qi Zhang, Kun Zhao, Cui-Ping Zhang, Zi-Bin Tian, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Qingdao University Medical College, Qingdao 266003, Shandong Province, China
Correspondence to: Cui-Ping Zhang, Professor, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Qingdao University Medical College, 16 Jiangsu Road, Qingdao 266003, Shandong Province, China. rose201001@126.com
Received: 2013-02-23 Revised: 2013-03-26
Accepted: 2013-04-12 Published online: 2013-05-08

Abstract

AIM: To investigate the characteristics of esophageal motility and esophageal acid exposure in elderly patients with gastroesophageal reflux disease (GERD).

METHODS: Twenty-five elderly patients and fourteen non-elderly patients with typical GERD symptoms were recruited and divided into a reflux esophagitis group and a non-erosive reflux esophagitis group. All patients underwent high-resolution manometry and 24 h pH monitoring.

RESULTS: The lower esophageal sphincter pressure (LESP) was significantly lower in elderly GERD patients than in non-elderly GERD patients (9.81 mmHg ± 5.78 mmHg *vs* 13.79 mmHg ± 4.40 mmHg, $P < 0.05$), especially in the elderly RE group. The speed of esophageal peristalsis transmission was slower (62.99 cm/s ± 21.10 cm/s *vs* 64.69 cm/s ± 14.03 cm/s, $P < 0.01$) and the peristalsis wave duration time was longer (3.74 s ± 1.32 s *vs* 2.94 s ± 0.66 s, $P < 0.05$) in elderly GERD patients than in non-elderly GERD patients. The supine time (pH < 4) (9.10% ± 12.99% *vs* 1.92% ± 2.56%) and De-Meester score in elderly patients were higher than those in non-elderly patients (45.43 mmHg-cm-s ± 5 0.63 mmHg-cm-s *vs* 16.06 mmHg-cm-s ± 23.66 mmHg-cm-s). There were no significant differences in other parameters between the two groups.

CONCLUSION: Compared with non-elderly patients, esophageal anti-reflux defense mechanism is weakened, the function of esophageal peristalsis declines and the degree of acid exposure aggravates in elderly GERD patients.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Elderly; Gastroesophageal reflux disease; Esophageal manometry; 24 h pH monitoring

Sun SS, Zhang Q, Zhao K, Zhang CP, Tian ZB. Characteristics of esophageal motility and esophageal acid exposure in elderly patients with gastroesophageal reflux disease. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(13): 1245-1249 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1245.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i13.1245

摘要

目的: 探讨老年胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)患者的食道动力及胃食管反流特点.

方法: 选取具有典型胃食管反流症状的老年患者25例及中青年患者14例, 根据消化系内镜检查结果, 两疾病组分别分为反流性食管炎组与非糜烂性反流病组. 所有患者均行高分辨率食管测压及24 h pH监测检查.

结果: 与中青年组相比, 老年组的食管下括约肌压力明显降低(9.81 mmHg±5.78 mmHg *vs*

■背景资料
胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)是消化内科中的常见疾病, 老年人作为一个特殊的人群其GERD的发病率呈逐年上升的趋势, 而有关老年GERD患者食道动力方面的研究甚少.

■同行评议者
蓝宇, 教授, 北京积水潭医院消化科

■研发前沿
目前认为老年GERD患者食管运动功能及酸暴露情况与中青年人不同，有关老年GERD患者食管动力及胃食管反流方面的研究成为热点.

13.79 mmHg±4.40 mmHg, *P*<0.05), 以老年RE组降低为著, 食管体部蠕动波传导速度较之减慢(62.99 cm/s±21.10 cm/s *vs* 64.69 cm/s±14.03 cm/s, *P*<0.01), 维持时间延长(3.74 s±1.32 s *vs* 2.94 s±0.66 s, *P*<0.05); 24 h pH监测数据中, 老年组卧位pH<4时间百分比(9.10%±12.99% *vs* 1.92%±2.56%)以及DeMeester评分(45.43 mmHg-cm-s±50.63 mmHg-cm-s *vs* 16.06 mmHg-cm-s±23.66 mmHg-cm-s)均明显高于中青年组(*P*<0.05), 其他各项指标无统计学意义.

结论: 与中青年相对比, 老年GERD患者食管抗反流防御机制下降, 食管体部蠕动功能减退, 酸暴露程度加重, 更容易发生胃食管反流.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 老年人; 胃食管反流病; 食管测压; 24 h pH监测

核心提示: 老年人由于受年龄的影响, 食管蠕动功能障碍明显减弱, 且与胃食管反流的程度呈密切正相关. 食管酸暴露情况重于其他人群, 更易发生胃食管反流.

孙莎莎, 张琪, 赵坤, 张翠萍, 田宇彬. 老年胃食管反流病患者食道动力及胃食管反流的特点. 世界华人消化杂志 2013; 21(13): 1245-1249 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1245.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i13.1245

0 引言

胃食管反流病(gastro-esophageal reflux disease, GERD)是临床中的常见疾病, 是由多种因素导致的消化系动力障碍性疾病, 通常根据内镜下黏膜损害结果可将其分为非糜烂性反流病(non-erosive reflux disease, NERD)以及反流性食管炎(reflux esophagitis, RE). 目前已有国内研究表明, 老年GERD的发病率呈逐年上升的趋势, 而有关老年GERD患者食道动力方面的研究甚少, 本研究旨在通过高分辨率食管测压(high-resolution manometry, HRM)及24 h pH监测以分析老年人食道动力及胃食管反流的特点, 同时与中青年加以比较.

1 材料和方法

1.1 材料 选取来我院门诊就诊的具有反酸、烧心等典型胃食管反流症状的老年患者25例及中青年患者14例, 其中老年组男8例, 女17例, 年龄在65-71岁, 平均63.8岁. 中青年组男性8例, 女性6例, 年龄在27-50岁, 平均39.3岁. 于我院门诊行胃镜检查, 根据内镜检查结果两疾病组再次分为RE组和NERD组, 其中老年RE组9例, NERD组16例, 中青年RE组5例, NERD组9例. 最后均行食管测压及24 h pH监测检查. 排除标准: 所有入选者均需排除器质性病变如消化性溃疡等及影响食管运动功能的其他全身性疾病如糖尿病、自身免疫性疾病等. 应用36通道高分辨率食管测压系统(美国SSI公司, Sierra Scientific Instrument), 对食管体部的不同部位张力进行同步监测. 通过ManoView Analysis分析软件分析获得相关数据. 24 h食管pH监测使用便携式pH动态监测记录仪, 监测前将电极管应用pH 7.0及pH 4.0标准缓冲液进行电极校正. 监测结果通过计算机进行分析.

1.2 方法

1.2.1 食管测压: 检查前停服抑酸药、胃肠动力药及其他影响胃功能药物(如钙通道阻滞剂、抗抑郁药)至少7 d, 经鼻腔插入测压导管, 总共收集10次湿咽, 每次咽水5 mL, 两次吞咽间隔时间>30 s. 主要记录指标: 食管下括约肌压力(lower esophageal sphincter pressure, LESP), 食管远端蠕动收缩波幅(peristalsis amplitude, PA), 蠕动波持续时间(peristalsis duration, PD), 蠕动波传导速度(peristalsis velocity, PV), 远端收缩积分(the distal contractile integral, DCI). 食管动力障碍疾病的具体分类参考2009年芝加哥分类标准[1].

1.2.2 24 h pH监测: 于食管测压检查后进行. 电极导管置于LES上方5 cm处. 受试者可正常活动及饮食, 但应注意避免进食酸性食物及饮料. 24 h后监测结果应用计算机进行分析. 主要分析以下参数: 酸反流的总次数, 酸反流>5 min的次数, 总计pH<4的百分比, 立位pH<4的百分比, 卧位pH<4的百分比, 最长反流时间. 最终以DeMeester评分>14.72和/或pH<4的总时间超过4%判定为病理性酸反流.

统计学处理 应用统计学程序分析软件SPSS17.0进行统计学处理, 两组之间比较采用*t*检验方法, *P*<0.05认为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 食管测压结果 LESP在老年组明显低于中青年组, 以老年RE组降低为著, 两组间LESP差异具有显著统计学意义(*P*<0.001). 食管体部

表 1 老年组和中青年组食管测压结果 (mean ± SD)

	老年组	中青年组	*P*值
食管下括约肌压力(mmHg)	9.81 ± 5.78	13.79 ± 4.40	<0.05
食管远端蠕动收缩波幅(mmHg)	62.99 ± 21.10	64.69 ± 14.03	>0.05
蠕动波持续时间(s)	3.74 ± 1.32	2.94 ± 0.66	<0.05
蠕动波传导速度(cm/s)	3.30 ± 1.01	4.26 ± 1.02	<0.01
远端收缩积分(mmHg–cm–s)	1748.82 ± 626.17	1987.37 ± 559.04	>0.05

表 2 老年组及中青年组RE与NERD组食管测压结果比较 (mean ± SD)

分组	食管下括约肌压力 (mmHg)	食管远端蠕动收缩波幅 (mmHg)	蠕动波持续时间 (s)	蠕动波传导速度 (cm/s)	远端收缩积分 (mmHg–cm–s)
老年组					
RE组	8.60 ± 2.69	59.96 ± 14.91	3.36 ± 0.53	2.69 ± 0.59	1468.0 ± 460.45
NERD组	9.44 ± 3.23	69.34 ± 45.59	3.96 ± 1.58	3.26 ± 1.17	1905.7 ± 663.59
中青年组					
RE组	12.36 ± 3.73[a]	57.78 ± 32.84	3.10 ± 1.07	4.42 ± 1.49	1866.8 ± 695.38
NERD组	14.58 ± 4.75[b]	71.86 ± 27.82	2.84 ± 0.33[a]	4.17 ± 0.74	2054.3 ± 501.93[a]

[a]*P*<0.05, [b]*P*<0.01 *vs* 老年RE组.

表 3 老年组与中青年组24 h pH监测结果 (mean ± SD)

	老年组	中青年组	*P*值
反流次数(次)	106.04 ± 86.65	78.37 ± 63.42	>0.05
反流>5 min次数	10.97 ± 14.95	6.18 ± 5.89	>0.05
总计pH<4时间(%)	11.67 ± 15.83	3.80 ± 4.77	>0.05
立位pH<4时间(%)	14.87 ± 19.27	5.11 ± 6.45	>0.05
卧位pH<4时间(%)	9.10 ± 12.99	1.92 ± 2.56	<0.05
最长反流时间(min)	27.28 ± 34.06	13.43 ± 13.22	>0.05
DeMeester评分	45.43 ± 50.63	16.06 ± 23.66	<0.05

的蠕动功能参数食管体部PD、PV老年组均明显低于中青年组, 两组间差异均具有统计学意义(*P*<0.05, *P*<0.01), 而DCI虽明显低于中青年组, 但差异无显著性; 老年NERD组、中青年RE组、中青年NERD组LESP均高于老年RE组, 两组之间分别比较差异具有统计学意义, 其中以中青年NERD组显著(*P*<0.01); 中青年两疾病组的PD均短于老年两疾病组, 以中青年NERD组为著, 与老年RE组相比较, 具有显著统计学意义(*P*<0.05, 表1, 2).

2.2 24 h pH结果 各项检查指标结果显示卧位pH<4时间百分比以及DeMeester评分老年组与中青年组组间差别具有统计学意义; 酸反流总次数、酸反流>5 min次数、最长反流时间、总计pH<4的百分比, 立位pH<4的百分比无明显统计学意义(表3).

3 讨论

胃食管反流病是我国消化系的常见疾病之一, 其病理生理机制尚未真正明确, 但国内外已普遍认为GERD是由多种因素导致的消化系动力障碍性疾病[2]. 临床上, 许多患者都以反酸、烧心、胸骨后不适等典型胃食管反流症状就诊, 行消化系内镜检查却未见食道黏膜有损害, 而通过食管测压检查可以发现大部分患者食道蠕动功能存在障碍. 国外报道约有一半的GERD患者食管体部蠕动功能存在障碍[3]. 本实验中, 我们对39例GERD患者进行食管测压检查, 结果发现22例患者存在食道蠕动功能障碍, 这一点与国外报道相一致. 如今, 随着老龄化的发展, 人

■相关报道
Behar研究发现食管酸清除时间延长与LESP降低有关联, Kraus等发现LESP与酸暴露程度无明显相关.

■**创新盘点**
本文选用多项观察指标更全面的了解老年GERD患者的食道动力特点.

群中GERD的发病率有随年龄增高的趋势.老年胃食管反流病亦愈来愈引起社会的关注, 据调查统计, 目前我国GERD的发病年龄集中在31-71岁之间, 其中>70岁的占12.9%[4], 由此看来, 重视对老年胃食管反流病的诊断与治疗显得尤为重要.

GERD的发病与多种因素有关, 包括食管下括约肌压力低下、频繁的一过性食管下括约肌松弛、食管酸清除时间延长等[5]. 食管下括约肌作为最主要的功能性抗反流屏障, 能有效地防止胃内容物反流入食管. LES压力过低则会导致胃或十二指肠内容物反流入食管, 进而损害食管黏膜引起一系列症状[6]. 有研究表明LES低张力可能是胃食管反流不容忽视的一个重要因素[7]. 老年人由于年龄的影响生理机能逐渐减退而导致LES压力减弱, 抗反流屏障功能减退. 郭荣斌等[8]观察到老年GERD患者的LESP明显低于正常对照组, 老年RE患者下食管括约肌功能障碍的严重程度明显重于非老年患者. 本研究结果显示老年和中青年两疾病组LESP均降低, 且老年组的LESP明显低于中青年组(P<0.001), 以老年RE组最为显著, 与文献报道一致. 而老年NERD组与老年RE组, 两组间比较差异亦具有显著性(P<0.05), 表明LESP降低在GERD的发病中具有重要意义, 老年人由于受年龄的影响, LES抗反流屏障功能失调, 导致食管酸暴露增加, 食管黏膜损害加重, 合并食管炎者LES功能障碍更明显. 因此我们推测老年人比中年人更易患胃食管反流病.

食管体部的有效蠕动方式(包括原发性蠕动和继发性蠕动)以及正常的传导性收缩是食管正常清除功能的保障. 当食管蠕动功能出现障碍则不能及时有效的将反流入食管的胃及十二指肠内容物清除, 从而使食管黏膜的酸及胆汁暴露时间延长而加重了对食管黏膜的损伤[9]. GERD患者食管体部无效吞咽比例增加, 且出现双峰或多峰复合波, 蠕动功能明显减弱, 其波幅及传导速度均低于正常人[10]. 何素玉等[11]报道与上述报道一致. 食管黏膜损伤的严重程度与食管蠕动功能异常的发生率呈正相关, 重度反流性食管炎食管体部运动异常的发生率明显高于NERD患者[12], 但王虹等[13]的研究显示食管黏膜损害的程度与食管体部动力障碍间无因果关系. 我们的研究显示, 老年组不仅LESP明显低于中年组, 食管体部蠕动功能参数蠕动波传导速度、维持时间两项指标与中年人相比均有显著差异(P<0.05, P<0.01), 提示老年人食管蠕动功能明显减弱, 导致酸廓清能力亦降低. 本研究结果还显示中青年两疾病组的食管PD均短于老年两疾病组, 以中年NERD组为著, 与老年RE组相比较, 具有显著统计学意义(P<0.05)提示老年人食管蠕动功能障碍与胃食管反流程度的加重呈密切正相关.

食管黏膜过度的酸暴露是GERD发病的另一个重要因素, 而24 h pH监测可比较准确的记录食管黏膜酸反流的程度. 有研究报道合并有食管炎的GERD患者的异常酸暴露比无食管炎者严重[14]. 王智凤等[15]也观察到食管黏膜损害极易出现在酸反流严重、食管动力障碍的GERD患者中. 年龄作为GERD发病的一个独立的危险因素对食管酸反流亦存在一定影响. Fass等[16]发现老年人与其他人群相比较, 食管酸暴露的多项指标均有明显升高. 本研究结果显示在卧位pH<4时间百分比以及DeMeester评分两项指标方面老年疾病组均明显高于中年组(P<0.05)其他各项指标无统计学意义. 提示老年GERD患者存在明显胃食管反流现象, 食管黏膜酸暴露情况重于其他人群. 但是我们的研究发现, 尽管如此, 老年GERD患者典型胃食管反流症状并不明显重于中年人, 而内镜下食管黏膜损害情况往往较后者严重, 食管外症状较多, 这提示我们在临床上应更加重视对GERD表现不典型老年患者的诊断.

4 参考文献

1 Pandolfino JE, Ghosh SK, Rice J, Clarke JO, Kwiatek MA, Kahrilas PJ. Classifying esophageal motility by pressure topography characteristics: a study of 400 patients and 75 controls. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 27-37 [PMID: 17900331 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2007.01532.x]
2 查慧, 谢小平, 侯晓华. 胃食管反流病患者酸反流与食管运动功能障的关系. 胃肠病学 2006; 11: 41-44
3 Ho SC, Chang CS, Wu CY, Chen GH. Ineffective esophageal motility is a primary motility disorder in gastroesophageal reflux disease. *Dig Dis Sci* 2002; 47: 652-656 [PMID: 11911355]
4 唐旭东, 王萍, 卞立群, 张引强. 胃食管反流病的流行病学研究. 现代消化及介入诊疗 2008; 13: 22-26
5 张峻, 徐有青, 杨昭徐. Barrett's食管、糜烂性食管炎及非糜烂性反流病发生机制的比较. 世界华人消化杂志 2010; 18: 3249-3254
6 Trudgill NJ, Riley SA. Transient lower esophageal sphincter relaxations are no more frequent in patients with gastroesophageal reflux disease than in asymptomatic volunteers. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 2569-2574 [PMID: 11569677 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2001.04100.x]
7 Eckardt VF, Dilling B, Bernhard G. The impact of open access 24-h pH-metry on the diagnosis and management of esophageal reflux disease. *Am J*

Gastroenterol 1999; 94: 616-621 [PMID: 10086640 DOI: 10.1111/j.1572-0241.1999.00923.x]
8 郭荣斌, 彭丽华, 程留芳, 王巍峰. 老年胃食管反流病患者食管运动功能改变. 世界华人消化杂志 2004; 12: 125-128
9 夏宣平, 柯美云. 胃食管反流病的病因和发病机制. 胃肠病学 2003; 8: 227-231
10 Xenos ES. The role of esophageal motility and hiatal hernia in esophageal exposure to acid. *Surg Endosc* 2002; 16: 914-920 [PMID: 12163954 DOI: 10.1007/s00464-001-8208-5]
11 何素玉, 陈拥军, 徐建玉, 唐毅, 姚勇, 孙怡, 丁晓梅. 非糜烂性反流病患者食管动力特征分析. 胃肠病学 2011; 16: 487-489
12 许军英, 谢小平, 侯晓华. 食管运动功能异常与食管黏膜损伤的关系. 世界华人消化杂志 2004; 12: 1502-1504
13 王虹, 高建萍, 周磊, 顾清, 顾而立, 周慧. 食管体部动力异常在胃食管反流病中的作用. 胃肠病学 2004; 9: 13-16
14 林金坤, 胡品津, 朱雪茵, 陈旻湖, 李初俊, 任明. 食管测压及24h pH监测诊断GERD的价值. 世界华人消化杂志 1998; 6: 51- 53
15 王智凤, 柯美云, 蓝宇. 正常人和胃食管反流病患者的昼夜pH和动力变化. 中华消化杂志 1998; 18: 242-243
16 Fass R, Pulliam G, Johnson C, Garewal HS, Sampliner RE. Symptom severity and oesophageal chemosensitivity to acid in older and young patients with gastro-oesophageal reflux. *Age Ageing* 2000; 29: 125-130 [PMID: 10791446 DOI: 10.1093/ageing/29.2.125]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

■同行评价
本文属实用类型文章, 其结果对临床认识胃食管反流病有一定指导作用.

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》外文字符标准

本刊讯 本刊论文出现的外文字符应注意大小写、正斜体与上下角标. 静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服*po*, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P^H, *H pylori*不能写成HP, T1/2不能写成tl/2或$T_{\frac{1}{2}}$, *V*max不能Vmax, μ不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种. 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H.pylori*), *Ilex pubescens* Hook, *et* Arn.*var.glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数*K*; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验和概率*P*, 相关系数*r*); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*)如*n*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), 例如*n*-butyl acetate(醋酸正丁酯), *N*-methylacetanilide(N-甲基乙酰苯胺), *o*-cresol(邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline(3-O-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine(右旋苯丙胺), *l*-dopa(左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸). 拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*; Ibid, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m*(质量), *V*(体积), *F*(力), *p*(压力), *W*(功), *v*(速度), *Q*(热量), *E*(电场强度), S(面积), *t*(时间), *z*(酶活性, kat), *t*(摄氏温度, ℃), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq), ρ(密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L), φ(体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径), T_{max}, C_{max}, *V*d, $T_{1/2}$ *CI*等. 基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白.

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2013年5月8日; 21(13): 1250-1255
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

正常胃黏膜菌群特征分析2例

王莉莉, 董开芯, 周建华, 于新娟, 贾盛佼, 董全江

■背景资料
目前研究发现正常人的胃肠道菌群的细菌种类超过1000种, 数量约为10^{14}. 胃肠道菌群能够促进人体肠道发育、营养吸收和病原体抵抗等, 并且可以直接参与调节小肠上皮细胞增殖、脂肪储存和炎症应答等机制. 健康状态下, 胃肠道菌群与人体和胃肠道微环境保持着一个平衡状态. 胃肠道微生物的过度缺失或者过度繁殖, 都会导致炎症性肠病、甚至癌症.

王莉莉, 董开芯, 于新娟, 贾盛佼, 董全江, 青岛大学医学院附属青岛市市立医院消化内科及中心实验室 青岛市消化病重点实验室 山东省青岛市 266011
周建华, 青岛大学医学院附属青岛市市立医院口腔医学中心 山东省青岛市 266011
王莉莉, 硕士, 主治医师, 主要从事胃肠道菌群方面研究.
作者贡献分布: 王莉莉、董开芯、周建华、于新娟、贾盛佼及董全江对本文均有贡献; 此课题由王莉莉与董全江设计; 研究过程由王莉莉、董开芯及周建华完成; 生物信息学分析由于新娟与贾盛佼共同完成; 本论文写作由王莉莉、董全江及周建华共同完成.
通讯作者: 董全江, 教授, 主任医师, 266011, 山东省青岛市东海中路5号, 青岛大学医学院附属青岛市市立医院消化内科及中心实验室, 青岛市消化病重点实验室. jiangacer@126.com
电话: 0532-88905289
收稿日期: 2013-01-30 修回日期: 2013-03-10
接受日期: 2013-04-15 在线出版日期: 2013-05-08

454-pyrosequencing analysis of normal gastric mucosal microbiota

Li-Li Wang, Kai-Xin Dong, Jian-Hua Zhou, Xin-Juan Yu, Sheng-Jiao Jia, Quan-Jiang Dong

Li-Li Wang, Kai-Xin Dong, Xin-Juan Yu, Sheng-Jiao Jia, Quan-Jiang Dong, Department of Gastroenterology, Department of Central Laboratory, Qingdao Municipal Hospital, Medical College of Qingdao University, Qingdao Key Laboratory of Digestive Diseases, Qingdao 266011, Shandong Province, China
Jian-Hua Zhou, Department of Stomatology, Qingdao Municipal Hospital, Medical College of Qingdao University, Qingdao 266011, Shandong Province, China
Correspondence to: Quan-Jiang Dong, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Department of Central Laboratory, Qingdao Municipal Hospital, Medical College of Qingdao University; Qingdao Key Laboratory of Digestive Diseases, Qingdao 266011, Shandong Province, China. jiangacer@126.com
Received: 2013-01-30 Revised: 2013-03-10
Accepted: 2013-04-15 Published online: 2013-05-08

Abstract

AIM: To characterize the normal gastric microbiota.

METHODS: Genomic DNA was extracted from antral biopsies obtained from two patients who had histologically normal gastric mucosa. The 16S rRNA gene was amplified using PCR. The barcoded 454-pyrosequencing method was used to analyze the amplified products. To investigate the community structure, diversity and abundance of gastric microbiota, sequence analysis was performed using bioinformatic methods including OTU hierarchical clustering and alpha diversity analysis.

RESULTS: High-throughout sequencing of the gastric microbiota from patients A and B obtained 20565 and 17487 sequences, respectively. The coverage was greater than 0.98. Gastric microbiota was composed of 638 and 667 OTUs, respectively. Alpha diversity analysis revealed that Chao and Shannon indices of gastric microbiota were slightly lower than those of fecal microbiota. For patient A, the gastric microbiota was composed of 58 bacterial genera belonging to 14 phyla. *Proteobacteria*, *Actinomycetes*, *Firmicutes* and *Bacteroides* were dominant in the gastric microbiota from patient A. The gastric microbiota from patient B had a similar bacterial composition, consisting of 64 bacterial genera belonging to 19 phyla. *Serratia* was the predominant genus in both patients.

CONCLUSION: Normal gastric microbiota shows a high diversity. *Proteobacteria* is the most abundant phylum, while *Serratia* is the predominant genus.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Gastric microbiota; 454-pyrosequencing analysis; *Proteobacteria*; *Serratia*

Wang LL, Dong KX, Zhou JH, Yu XJ, Jia SJ, Dong QJ. 454-pyrosequencing analysis of normal gastric mucosal microbiota. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(13): 1250-1255 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1250.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i13.1250

摘要

目的: 分析消化不良患者的正常胃黏膜菌群特征.

方法: 收集2例正常胃黏膜病理学消化不良患者的胃窦黏膜, 提取黏膜组织基因组DNA,应用PCR方法扩增16S rRNA, 进行二代454焦磷

■同行评议者
谭周进, 教授, 湖南中医药大学

酸测序. 测序数据应用操作单元(operational taxonomic units, OTU)聚类分析、多样性分析和分类学分析等生物信息技术分析胃黏膜菌群的结构、多样性和丰度.

结果: 患者A和B胃黏膜菌群的高通量测序分析分别得到20565条和17487条优化序列, 测序覆盖深度>0.98. 经过97%相似度归并后分别得到638个OTUs和667个OTUs; 菌群多样性分析显示正常胃黏膜菌群的chao指数和shannon指数均低于粪便菌群. 患者A的胃黏膜菌群由58个属的细菌构成, 归属于14个门, 以变形菌门为主(99.49%), 其次为放线菌门、硬壁菌门和拟杆菌门等. 患者B胃黏膜菌群构成与患者A相似, 由64个属的细菌构成, 归属于19个门. 粘质沙雷(氏)菌为正常胃黏膜菌群的优势主导菌.

结论: 正常胃黏膜菌群多样性丰富, 以变形菌门为主, 沙雷(氏)菌为优势主导菌.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 胃菌群; 454焦磷酸测序; 变形菌门; 沙雷(氏)菌属

核心提示: 本研究运用高通量测序技术和生物信息学分析方法, 对两例胃黏膜组织学正常个体的胃菌群的结构、丰度、组成进行了分析. 结果发现正常胃黏膜菌群的丰度低于肠道菌群, 但具有高度的多样性. 胃菌群的组成以变形菌门为主, 沙雷(氏)菌属为优势主导菌, 这为研究胃黏膜菌群在慢性胃病发生中的作用奠定了基础.

王莉莉, 董开芯, 周建华, 于新娟, 贾盛佼, 董全江. 正常胃黏膜菌群特征分析2例. 世界华人消化杂志 2013; 21(13): 1250-1255
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1250.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i13.1250

0 引言

人胃肠道内定居着大量的细菌, 他们构成维持人体正常生理功能所必需的胃肠道菌群. 目前, 研究[1]发现健康人群胃肠道菌群的细菌种类超过1000种, 数量约为10^{14}. 胃肠道菌群能够促进人体肠道发育、营养吸收和病原体抵抗等, 并且可以直接参与调节小肠上皮细胞增殖、脂肪储存和炎症应答等机制[2,3]. 健康状态下, 胃肠道菌群与人体和胃肠道微环境保持着一个平衡状态. 当机体受到某些内因或外因的作用如不合理饮食、感染、应激等, 引起胃肠道菌群的结构、数量、比例、定位和代谢特征的变化等, 从而导致疾病的发生[4]. 人体胃肠道微生物群落是一个复杂的系统, 传统的培养法无法提供全面的信息来探究其群落结构的组成[5]. 本研究利用第二代454焦磷酸测序技术, 通过提取2例胃黏膜病理学检查正常的消化不良患者的胃黏膜菌群基因组DNA并扩增其16S rRNA, 进行高通量测序和生物信息学分析检测正常胃黏膜菌群的结构组成、多样性和丰度, 探讨生理状态下胃黏膜菌群的结构和优势主导菌, 为研究胃黏膜菌群与慢性胃部疾病的相关性提供理论依据.

■研发前沿
人体胃肠道微生物群落是一个复杂的系统, 传统的培养法无法提供全面的信息来探究其群落结构的组成. 既往二代高通量测序研究主要聚焦于皮肤、口腔、食管和肠道等部位的菌群分析, 对国内正常胃黏膜菌群的二代高通量测序分析目前尚无报道.

1 材料和方法

1.1 材料 胃窦黏膜活检标本取自青岛市市立医院胃镜室行胃镜检查的2例消化不良患者: (1)有消化不良的上消化道症状; (2)病理检测胃窦黏膜无异常发现. 患者A, 男, 86岁; 患者B, 男, 37岁. 检查前1 mo内均未服用任何抗生素. 标本分别编号为A、B, 放入脑心浸出液(BHI)培养基中, -80 ℃保存备用.

1.2 方法

1.2.1 胃黏膜菌群的基因组DNA提取: 采用E.Z.N.A DNA试剂盒(美国OMEGA公司)抽提胃黏膜菌群的基因组DNA, 步骤按说明书进行. 1%琼脂糖凝胶电泳检测抽提的基因组DNA完整性.

1.2.2 PCR扩增: 根据合成区域, 合成带有“5' 454 A、B接头-特异引物3'”的融合引物, 细菌16S rRNA引物序列为: 8F: 5'-AGAGT TTGATCCTG-GCTCAG-3'; 533R: 5'-TTACCGCGGCTGCTG-GCAC-3'(测序端). PCR反应体系为: 5 × FastPfu缓冲液4 μL, 正向引物5 μmol/L, 反向引物5 μmol/L, DNA 20 ng, dNTP 2.5 mmol/L, FastPfu 多聚酶0.4 μL, 加ddH_2O至总体积20 μL. PCR 反应条件为: 95 ℃ 2 min; 25个循环包括95 ℃ 30 s, 55 ℃ 30 s, 72 ℃ 30 s; 72 ℃ 5 min. 2%琼脂糖凝胶电泳检测PCR产物.

1.2.3 高通量测序: PCR产物定量均一化后采用454焦磷酸高通量测序仪(瑞士Roche公司)进行高通量测序.

1.2.4 生物信息学分析[6,7]: (1)优化序列数据统计: 去除序列末端的后引物和接头序列、多碱基N、polyA/T尾巴及低质量碱基; 去除所得序列的barcode标签序列、前引物序列; 丢弃长度短于200 bp、模糊碱基数>0、序列平均质量低于25的序列; (2)操作单元(operational taxonomic units, OTU)聚类分析: 提取非重复序列, 与silva

■相关报道
Li等采用一代克隆测序分析5例健康人胃黏膜和5例胃炎患者胃黏膜菌群，在正常胃黏膜菌群中鉴定出硬壁菌门、变形菌门、拟杆菌门、放线菌门和梭杆菌门等8个门，其中变形菌门所占比例最高(37%)，其次为硬壁菌门(22%)，而胃窦炎患者硬壁菌门(41%)所占比例最高，其次为拟杆菌门(25%)，变形菌门(20%).

表 1 样本454测序及多样性统计

	测序量(条)	97%相似性水平					
		OTU	ace指数	chao指数	simpson指数	shannon指数	coverage指数
患者A	20565	638	1 209	994	0.22	2.93	0.99
患者B	17487	667	1 529	1 232	0.21	2.96	0.98

数据库[8]中已比对的(16S/18S, SSU)核糖体序列数据库进行比对，去杂后生成分类操作单元(operational taxonomic units, OTU); (3)菌群多样性分析: 根据OTU聚类分析结果，采用ace, chao, simpson, shannon, 评估指数分别对样本进行多样性分析[9]. 其中ace, chao指数是对菌群丰度进行评估; simpson, shannon指数对菌群多样性进行评估; (4)稀释性曲线分析: 采用mothur软件[10]在97%相似性水平绘制标本稀释性曲线，比较测序数量不同的样本物种的丰富度及样本的取样大小是否合理; (5)菌群分类学分析: 采用mothur软件将OTU中全部序列与silva数据库进行比对，找出其最相近且可信度达80%以上的种属信息. 并将每一个OTU中的所有序列进行类比，找出同一OTU中的不同序列的最近祖先的种属信息. 根据silva库中的参考序列对OTU进行种属鉴定; (6)菌群群落结构分析: 根据分类学分析比对结果，在属水平上对样品中群落结构进行菌群种类和丰度分析.

2 结果

2.1 测序质量评价 运用PCR方法扩增细菌*16S rRNA*基因进行高通量测序，患者A的胃黏膜菌群共获得23810条有效序列，优化序列为20565条，测序覆盖深度(coverage指数)为0.99，经过97% 相似度归并后得到638个OTUs; 患者B的胃黏膜菌群得到20245条有效序列，经优化为17487条序列，coverage指数为0.98，经过97% 相似度归并后得到667个OTUs(表1). 稀释性曲线分析可见，尽管每个样品的多样性存在差异，但所有的曲线均趋于平缓、指数达到饱和(图1). 表明本实验每个样品的测序量足以完整描述该样品菌群的组成.

2.2 菌群多样性分析 患者A和B的胃黏膜菌群在97%相似性水平多样性指数详见表1. 患者A胃黏膜菌群多样性的ace指数为1 209, chao指数为994, shannon指数为2.93, simpson指数为0.22;患者B胃黏膜菌群多样性的ace指数为1529, chao指数为1232, shannon指数为2.96, simpson指数为0.21. 两样本的chao指数和shannon指数均低于已有研究的粪便菌群多样性指数[11].

2.3 菌群分类学和群落结构分析 分类学分析结果显示，患者A胃黏膜菌群主要由58个属的细菌构成，归属于14个门，以变形菌门为主(99.49%)，其次为放线菌门(0.32%)、硬壁菌门(0.04%)和拟杆菌门(0.03%)等. 患者B胃黏膜菌群构成与患者A相似，由64个属的细菌构成，归属于19个门，以变形菌门为主(99.03%)，其次为硬壁菌门(0.33%)、拟杆菌门(0.23%)和放线菌门(0.12%)等.

进一步在属水平上进行群落结构分析可见，患者A的胃黏膜菌群主要由沙雷(氏)菌属(*Serratia*, 92.01%)、黄单胞菌属(*Stenotrophomonas*, 4.53%)、消色杆菌属(*Achromobacter*, 1.57%)、丙酸菌属(*Propionibacterium*, 0.52%)、苍白杆菌属(*Ochrobactrum*, 0.23%)、戴尔福特菌属(*Delftia*, 0.17%)等组成. 患者B的胃黏膜菌群主要由沙雷(氏)菌属(89.79%)、黄单胞菌属(5.85%)、消色杆菌属(1.60%)、普雷沃菌属(*Prevotella*, 0.3%)、戴尔福特菌属(0.25%)、链球菌属(*Streptococcaceae Streptococcus*, 0.21%)、梭状芽胞杆菌(*Clostridium*, 0.14%)、奈瑟(氏)菌属(*Neisseria*, 0.14%)、丙酸菌属(0.12%)、布克氏菌属(*Burkholderia*, 0.11%)和梭杆菌属(*Fusobacterium*, 0.11%)等组成(图2).

3 讨论

过去人们认为胃内由于胃酸和其他抗菌因子的存在，处于“相对无菌”的状态[12-14]. 而胃内幽门螺杆菌的发现，打破了传统观念. 目前研究表明，胃内存在细菌群落，并已经适应胃内环境[15]. 尽管胃内菌群对人体健康和疾病极其重要，但目前研究较少，而且多是依靠传统培养技术和一代测序技术手段为基础，对研究胃内菌群的多样性和基因多态性有较大偏差[16,17]. 随着基因组学和现代分子生物技术的飞速发展，以454测序技术为代表的高通量测序技术更能完全覆盖微生物群落，并能发现罕见的少数肠道微生物，使人类可以更清晰地研究和了解人体微生物菌

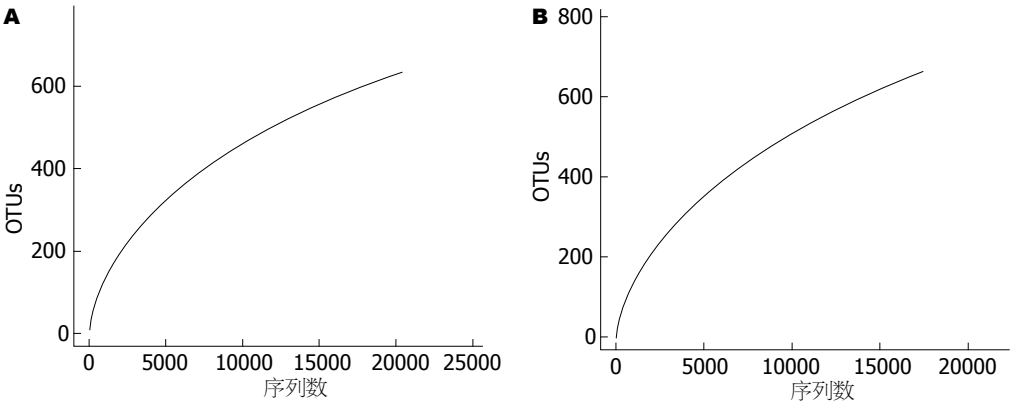


图 1 97%相似性水平稀释性曲线分析图. A: 患者A; B: 患者B.

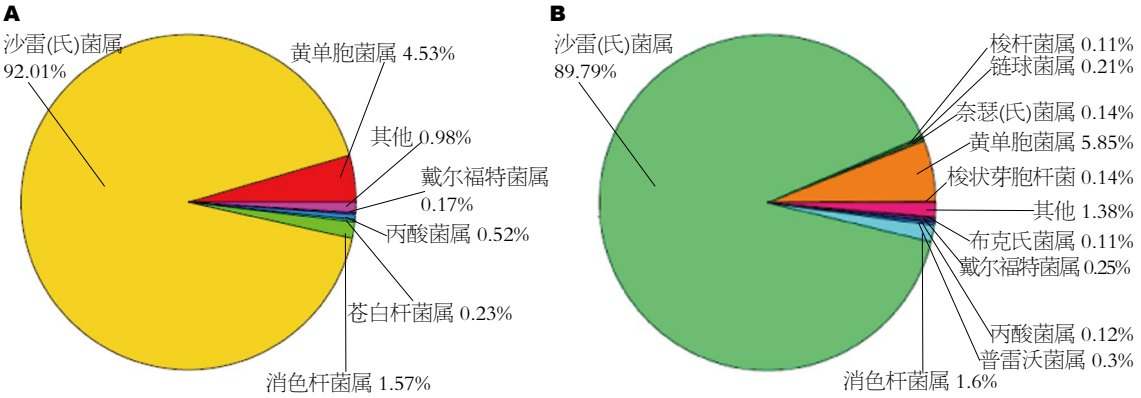


图 2 胃黏膜菌群群落结构分析图(属水平). A: 患者A; B: 患者B.

群的多样性和基因多态性[18]. 既往二代高通量测序研究主要聚焦于皮肤[19]、口腔[20]、食管[21]和肠道[22,23]等部位的菌群分析, 对国内正常胃黏膜菌群的二代高通量测序分析目前尚无报道.

本研究通过提取两例正常胃黏膜的菌群基因组DNA并扩增其16S rRNA, 并进行高通量测序, 样本A得到20565条优化序列, 经过97%相似度归并后得到638个OTUs; 样本B得到17487条优化序列和667个OTUs. 两样本的coverage指数均在0.98以上, 可以认为样本中至少有98%微生物被检测到, 测序深度较为合理. 2005年, 学者Bik等[24]从23例人胃黏膜活检标本提取细菌基因组DNA, 构建16S rDNA文库, 采用Sanger法一代测序技术只克隆出1833条序列和193.4个OTUs. 本研究每个样品得到的优化序列, 均远远高于Bik EM等克隆出的序列, 从而保证了微生物菌群多样性分析的深度和广度, 为后续的研究打下了坚实的基础. 通过菌群多样性指数比较分析, 样本A和B的chao指数高于Bik EM等的研究约50倍, chao指数是用chao1算法估计群落中含OTU数目的指数, 数值越大代表物种总数越多, 因此可以认为本研究鉴定的正常胃黏膜中微生物菌群中的物种总数远高于Bik EM等的研究. Simpson指数用来估算样品中微生物的多样性指数之一, 在生态学中常用来定量的描述一个区域的生物多样性, Simpson指数值越大, 说明群落多样性越低. Bik EM等研究Simpson指数为5.2, 高于本研究结果, 因此可以说明本研究测序的微生物群落多样性较为丰富. chao指数和Simpson指数有利的证明了采用二代测序能够比一代测序更能深入了解人体微生物菌群的种类和多样性.

Nam等[11]通过高通量测序技术研究正常的肠道粪便菌群并分析菌群多样性, chao平均指数为1500, shanno平均指数为4.99, 均高于本研究多样性结果. 粪便菌群代表了整个消化道菌群, 证明胃肠道菌群物种总数和多样性高于胃黏膜. 通过菌群分类学分析可见, 患者A和B的胃黏膜菌群在门水平上分析结果相似, 均以变形菌门为主, 分别占99.49%和99.03%, 放线菌门、硬壁菌门和拟杆菌门所占比例略有差异. 2011年学者Maldonado-Contreras等[25]提取了12例人胃黏膜

■应用要点

本研究采用高通量测序和生物信息学分析检测正常胃黏膜菌群的结构组成、多样性和丰度, 探讨生理状态下胃黏膜菌群的结构构成和优势主导菌, 为研究胃黏膜菌群与慢性胃部疾病的相关性提供理论依据.

■名词解释
高通量测序技术: 又称为“下一代”测序技术, 是对传统测序一次革命性的改变, 以能一次并行对几十万到几百万条DNA分子进行序列测定和一般读长较短等为标志. 高通量测序技术因其高通量、低成本、高精度和易操作的优点, 已被广泛应用于菌群的结构分析.

细菌基因组DNA, 采用基因芯片技术对16S rRNA进行原位杂交, 并通过G2芯片分类法在门水平上分析, 按照比例从高到低依次为: 变形菌门、硬壁菌门、放线菌门和拟杆菌门. 香港学者Li等[26]采用一代克隆测序分析5例健康人胃黏膜和5例胃炎患者胃黏膜菌群, 在正常胃黏膜菌群中鉴定出硬壁菌门、变形菌门、拟杆菌门、放线菌门和梭杆菌门等8个门, 其中变形菌门所占比例最高(37%), 其次为硬壁菌门(22%), 而胃窦炎患者硬壁菌门(41%)所占比例最高, 其次为拟杆菌门(25%), 变形菌门(20%). 以上二位学者在用不同方法对正常胃黏膜菌群的研究结果与本研究结果大体一致, 变形菌门细菌为正常胃黏膜菌群的优势主导菌. 然而本研究变形菌门所占比例高于上述学者的研究, 主要原因可能与受试对象所在的地域、自然环境因素和饮食等相关.

Hong等[27]经高通量测序技术研究, 认为正常结肠黏膜菌群主要由硬壁菌门(50.9%±21.3%), 拟杆菌门(40.2%±23.8%)和变形菌门(8.6%±4.7%)等组成; 属水平上分析含量最丰富前3位为拟杆菌属, 明串珠菌属和魏斯氏菌属, 但是不同个体和不同部位(左结肠、右结肠和直肠)比例差异较大. 通过比较发现, 本研究正常胃黏膜菌群种类和结肠黏膜菌群大体相似, 但是所占比例不同; 属水平上的细菌差异较大, 优势菌各有不同. 其原因可能是胃内和结肠生理环境和功能不一样, 导致不同的优势菌定植, 继而发挥各自的生理作用.

本研究中经属水平上进行群落结构分析, 患者A和B的胃黏膜菌群以沙雷(氏)菌为优势主导菌. 沙雷(氏)菌包括9个种, 临床上最常见, 也是生化特征最明显的是粘质沙雷氏菌[28]. 粘质沙雷菌为革兰氏阴性菌, 周身鞭毛、能运动、无荚膜、无芽胞, 广泛分布于自然界, 是水和土壤中的常居菌群, 亦是临床上常见的条件致病菌, 在机体免疫功能降低时可引起肺部和尿道感染以及败血症[29,30]. 按Bergey氏分类法, 属于肠道细菌类.

有研究表明, 胃肠道微生物的过度缺失或者过度繁殖, 都会导致炎症性肠病、甚至癌症[31]. 因此, 胃肠道菌群与疾病的关系非常密切. 胃部病理状态下如胃炎或者胃癌患者胃黏膜菌群是否与正常的胃黏膜菌群的结构、多样性和丰度有差别以及幽门螺杆菌存在是否对胃黏膜菌群是否有影响, 仍需要深入研究. 随着上述问题的解决, 将进一步对慢性胃部疾病的发病机制、诊断和临床治疗有重要的指导意义.

4 参考文献

1 Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, Relman DA, Brown PO. Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol* 2007; 5: e177 [PMID: 17594176 DOI: 10.1371/journal.pbio.0050177]
2 Bäckhed F, Ding H, Wang T, Hooper LV, Koh GY, Nagy A, Semenkovich CF, Gordon JI. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 15718-15723 [PMID: 15505215 DOI: 10.1073/pnas.0407076101]
3 Rakoff-Nahoum S, Paglino J, Eslami-Varzaneh F, Edberg S, Medzhitov R. Recognition of commensal microflora by toll-like receptors is required for intestinal homeostasis. *Cell* 2004; 118: 229-241 [PMID: 15260992 DOI: 10.1016/j.cell.2004.07.002]
4 Noverr MC, Huffnagle GB. Does the microbiota regulate immune responses outside the gut? *Trends Microbiol* 2004; 12: 562-568 [PMID: 15539116 DOI: 10.1016/j.tim.2004.10.008]
5 Moore WE, Holdeman LV. Human fecal flora: the normal flora of 20 Japanese-Hawaiians. *Appl Microbiol* 1974; 27: 961-979 [PMID: 4598229]
6 Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunenko T, Cantarel BL, Duncan A, Ley RE, Sogin ML, Jones WJ, Roe BA, Affourtit JP, Egholm M, Henrissat B, Heath AC, Knight R, Gordon JI. A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature* 2009; 457: 480-484 [PMID: 19043404 DOI: 10.1038/nature07540]
7 Kennedy DM, Stanton JA, García JA, Mason C, Rand CJ, Kieser JA, Tompkins GR. Microbial analysis of bite marks by sequence comparison of streptococcal DNA. *PLoS One* 2012; 7: e51757 [PMID: 23284761 DOI: 10.1371/journal.pone.0051757]
8 Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T, Yarza P, Peplies J, Glöckner FO. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Res* 2013; 41: D590-D596 [PMID: 23193283 DOI: 10.1093/nar/gks1219]
9 Lin YT, Whitman WB, Coleman DC, Chih-Yu C. Molecular characterization of soil bacterial community in a perhumid, low mountain forest. *Microbes Environ* 2011; 26: 325-331 [PMID: 21727759 DOI: 10.1264/jsme2.ME11114]
10 Schloss PD, Westcott SL, Ryabin T, Hall JR, Hartmann M, Hollister EB, Lesniewski RA, Oakley BB, Parks DH, Robinson CJ, Sahl JW, Stres B, Thallinger GG, Van Horn DJ, Weber CF. Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Appl Environ Microbiol* 2009; 75: 7537-7541 [PMID: 19801464 DOI: 10.1128/AEM.01541-09]
11 Nam YD, Jung MJ, Roh SW, Kim MS, Bae JW. Comparative analysis of Korean human gut microbiota by barcoded pyrosequencing. *PLoS One* 2011; 6: e22109 [PMID: 21829445 DOI: 10.1371/journal.pone.0022109]
12 Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1984; 1: 1311-1315 [PMID: 6145023 DOI: 10.1016/S0140-6736(84)91816-6]
13 Higuchi K, Fujiwara Y, Tominaga K, Watanabe T, Shiba M, Nakamura S, Oshitani N, Matsumoto T,

Arakawa T. Is eradication sufficient to heal gastric ulcers in patients infected with Helicobacter pylori? A randomized, controlled, prospective study. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 17: 111-117 [PMID: 12492739 DOI: 10.1046/j.1365-2036.2003.01402.x]
14 Sherwood PV, Wibawa JI, Atherton JC, Jordan N, Jenkins D, Barrett DA, Shaw PN, Spiller RC. Impact of acid secretion, gastritis, and mucus thickness on gastric transfer of antibiotics in rats. *Gut* 2002; 51: 490-495 [PMID: 12235069 DOI: 10.1136/gut.51.4.490]
15 Merrell DS, Goodrich ML, Otto G, Tompkins LS, Falkow S. pH-regulated gene expression of the gastric pathogen Helicobacter pylori. *Infect Immun* 2003; 71: 3529-3539 [PMID: 12761138 DOI: 10.1128/IAI.71.6.3529-3539.2003]
16 Adamsson I, Nord CE, Lundquist P, Sjöstedt S, Edlund C. Comparative effects of omeprazole, amoxycillin plus metronidazole versus omeprazole, clarithromycin plus metronidazole on the oral, gastric and intestinal microflora in Helicobacter pylori-infected patients. *J Antimicrob Chemother* 1999; 44: 629-640 [PMID: 10552979 DOI: 10.1093/jac/44.5.629]
17 Zoetendal EG, Collier CT, Koike S, Mackie RI, Gaskins HR. Molecular ecological analysis of the gastrointestinal microbiota: a review. *J Nutr* 2004; 134: 465-472 [PMID: 14747690]
18 Shendure J, Ji H. Next-generation DNA sequencing. *Nat Biotechnol* 2008; 26: 1135-1145 [PMID: 18846087 DOI: 10.1038/nbt1486]
19 Roberson ED, Liu Y, Ryan C, Joyce CE, Duan S, Cao L, Martin A, Liao W, Menter A, Bowcock AM. A subset of methylated CpG sites differentiate psoriatic from normal skin. *J Invest Dermatol* 2012; 132: 583-592 [PMID: 22071477 DOI: 10.1038/jid.2011.348]
20 Goldman CG, Matteo MJ, Loureiro JD, Almuzara M, Barberis C, Vay C, Catalano M, Heredia SR, Mantero P, Boccio JR, Zubillaga MB, Cremaschi GA, Solnick JV, Perez-Perez GI, Blaser MJ. Novel gastric helicobacters and oral campylobacters are present in captive and wild cetaceans. *Vet Microbiol* 2011; 152: 138-145 [PMID: 21592686 DOI: 10.1016/j.vetmic.2011.04.023]
21 Yang L, Francois F, Pei Z. Molecular pathways: pathogenesis and clinical implications of microbiome alteration in esophagitis and Barrett esophagus. *Clin Cancer Res* 2012; 18: 2138-2144 [PMID: 22344232 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-0934]
22 Brignardello J, Morales P, Diaz E, Romero J, Brunser O, Gotteland M. Pilot study: alterations of intestinal microbiota in obese humans are not associated with colonic inflammation or disturbances of barrier function. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 32: 1307-1314 [PMID: 21050232 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2010.04475.x]
23 Manges AR, Labbe A, Loo VG, Atherton JK, Behr MA, Masson L, Tellis PA, Brousseau R. Comparative metagenomic study of alterations to the intestinal microbiota and risk of nosocomial Clostridum difficile-associated disease. *J Infect Dis* 2010; 202: 1877-1884 [PMID: 21050115 DOI: 10.1086/657319]
24 Bik EM, Eckburg PB, Gill SR, Nelson KE, Purdom EA, Francois F, Perez-Perez G, Blaser MJ, Relman DA. Molecular analysis of the bacterial microbiota in the human stomach. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 732-737 [PMID: 16407106 DOI: 10.1073/pnas.0506655103]
25 Maldonado-Contreras A, Goldfarb KC, Godoy-Vitorino F, Karaoz U, Contreras M, Blaser MJ, Brodie EL, Dominguez-Bello MG. Structure of the human gastric bacterial community in relation to Helicobacter pylori status. *ISME J* 2011; 5: 574-579 [PMID: 20927139 DOI: 10.1038/ismej.2010.149]
26 Li XX, Wong GL, To KF, Wong VW, Lai LH, Chow DK, Lau JY, Sung JJ, Ding C. Bacterial microbiota profiling in gastritis without Helicobacter pylori infection or non-steroidal anti-inflammatory drug use. *PLoS One* 2009; 4: e7985 [PMID: 19956741 DOI: 10.1371/journal.pone.0007985]
27 Hong PY, Croix JA, Greenberg E, Gaskins HR, Mackie RI. Pyrosequencing-based analysis of the mucosal microbiota in healthy individuals reveals ubiquitous bacterial groups and micro-heterogeneity. *PLoS One* 2011; 6: e25042 [PMID: 21966408 DOI: 10.1371/journal.pone.0025042]
28 Dauga C, Grimont F, Grimont PA. Nucleotide sequences of 16S rRNA from ten Serratia species. *Res Microbiol* 1990; 141: 1139-1149 [PMID: 2092365 DOI: 10.1016/0923-2508(90)90087-7]
29 Arroyo JC, Milligan WL, Postic B, Northey J, Parker E, Bryan CS. Clinical, epidemiologic and microbiologic features of a persistent outbreak of amikacin-resistant Serratia marcescens. *Infect Control* 1981; 2: 367-372 [PMID: 7028654]
30 Arslan U, Erayman I, Kirdar S, Yuksekkaya S, Cimen O, Tuncer I, Bozdogan B. Serratia marcescens sepsis outbreak in a neonatal intensive care unit. *Pediatr Int* 2010; 52: 208-212 [PMID: 19664012 DOI: 10.1111/j.1442-200X.2009.02934.x]
31 Grahn N, Hmani-Aifa M, Fransén K, Söderkvist P, Monstein HJ. Molecular identification of Helicobacter DNA present in human colorectal adenocarcinomas by 16S rDNA PCR amplification and pyrosequencing analysis. *J Med Microbiol* 2005; 54: 1031-1035 [PMID: 16192433 DOI: 10.1099/jmm.0.46122-0]

编辑 李军亮 电编 鲁亚静

■同行评价

肠道微生物是目前研究的热点, 本文对2例病理检测正常的胃黏膜的菌群特征进行了研究, 具有一定科研价值. 选题正确, 实验设计合理, 数据可靠.

世界华人消化杂志 2013年5月8日; 21(13): 1256-1260
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

青年男性血清脂联素与非酒精性脂肪性肝炎的关系

张璐, 张琦, 方言, 朱奎轩, 李珍

■背景资料
非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)好发于中青年人, 病程可在10年以上, 部分患者可进展为肝硬化甚至肝癌, 严重威胁人民生命健康. 由于目前尚无特异治疗方案, 对其发生发展机制的研究对于预防及治疗NASH具有重要意义.

张璐, 方言, 李珍, 清华大学生命科学学院 北京市 100084
张琦, 朱奎轩, 清华大学医院 北京市 100084
张璐, 硕士, 主要从事脂联素相关的代谢研究.
作者贡献分布: 张璐与张琦对此文所作贡献均等; 此课题由张琦、张璐及李珍设计; 研究过程由张璐、张琦、方言及朱奎轩操作完成; 研究所用新试剂与分析工具由张琦与李珍提供; 数据分析由张璐与张琦完成; 本论文写作由张璐、张琦及李珍完成.
通讯作者: 李珍, 副教授, 100084, 北京市海淀区清华园, 清华大学生命科学学院. lizhen@mail.tsinghua.edu.cn
电话: 010-62770581
收稿日期: 2013-02-05 修回日期: 2013-03-07
接受日期: 2013-04-07 在线出版日期: 2013-05-08

Relationship between serum adiponectin and non-alcoholic steatohepatitis in young men

Lu Zhang, Qi Zhang, Yan Fang, Kui-Xuan Zhu, Zhen Li

Lu Zhang, Yan Fang, Zhen Li, School of Life Sciences, Tsinghua University, Beijing 100084, China
Qi Zhang, Kui-Xuan Zhu, Tsinghua University Hospital, Beijing 100084, China
Correspondence to: Zhen Li, Associate Professor, School of Life Sciences, Tsinghua University, Qinghuayuan, Haidian District, Beijing 100084, China. lizhen@mail.tsinghua.edu.cn
Received: 2013-02-05 Revised: 2013-03-07
Accepted: 2013-04-07 Published online: 2013-05-08

Abstract

AIM: To investigate the relationship between serum adiponectin and non-alcoholic steatohepatitis (NASH) in young men.

METHODS: The body mass index (BMI), alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, total cholesterol (TCHO), triglyceride, high-density lipoprotein, low-density lipoprotein (LDL), fasting plasma glucose and fasting plasma insulin were examined in 64 NASH patients and 46 healthy controls. The levels of adiponectin and high molecular weight (HMW) adiponectin were determined by ELISA and Western blot. The data were analyzed using SPSS19.0.

RESULTS: The level of total adiponectin and the ratio of HMW to total adiponectin were decreased in men with NASH, compared with controls (total adiponectin: 0.92 ± 0.17 *vs* 1.02 ± 0.16, $P < 0.01$; HMW/total: 0.39 ± 0.14 *vs* 0.47 ± 0.11, $P < 0.01$). The level of total adiponectin was decreased with the increase in the severity of NASH. Furthermore, the level of total adiponectin inversely correlated with TCHO (r = -0.358, $P < 0.01$) and LDL (r =- 0.339, $P < 0.05$). The ratio of HMW to total adiponectin was inversely correlated with BMI (r = -0.279, $P < 0.05$), but positively correlated with HDL (r = 0.266, $P < 0.05$).

CONCLUSION: The level of total adiponectin and the ratio of HMW to total adiponectin are directly related to NASH in young men. Adiponectin may play an important role in the development of NASH.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Non-alcoholic steatohepatitis; Adiponectin; High molecular weight; Aminotransferase

Zhang L, Zhang Q, Fang Y, Zhu KX, Li Z. Relationship between serum adiponectin and non-alcoholic steatohepatitis in young men. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(13): 1256-1260 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1256.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i13.1256

摘要

目的: 探究青年男性非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)患者血清脂联素总量及脂联素高聚体占总量的比例与NASH的关系.

方法: 测定64例NASH患者和46例健康患者对照组的转氨酶、血糖、血脂等生化指标及脂联素总量、脂联素各聚体含量, SPSS19.0分析统计.

结果: NASH患者血清脂联素总量和高聚体所占比例显著低于正常组, 且脂联素总量及高聚体比例随肝炎的严重程度递减. 脂联素总量与总胆固醇、低密度脂蛋白负相关; 脂联素高聚体比例与体质量指数负相关, 与高密度脂蛋白正相关.

结论: 血清脂联素总量及高聚体占总量比例

■同行评议者
郝丽萍, 副教授, 华中科技大学同济医学院公共卫生学院营养与食品卫生学系

与青年男性NASH的严重程度密切相关. 脂联素总量, 尤其是高聚体在总量中所占比例的降低会加重NASH发展程度.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 非酒精性脂肪性肝炎; 脂联素; 高聚体; 转氨酶

核心提示: 血清脂联素总量及高聚体占总量比例与青年男性非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)的严重程度密切相关. 脂联素总量, 尤其是高聚体在总量中所占比例的降低会加重NASH发展程度.

张璐, 张琦, 方言, 朱奎轩, 李珍. 青年男性血清脂联素与非酒精性脂肪性肝炎的关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(13): 1256-1260
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1256.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i13.1256

0 引言

非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)通常是指由肥胖、高脂等代谢因素所导致的肝组织学改变与酒精性肝炎相似但无嗜酒史的慢性疾病, 以肝细胞脂肪变性、坏死、炎症反应和纤维化为特征[1,2]. 临床上, NASH好发于中青年人, 病程可达10年以上, 部分患者可进展为肝硬化甚至肝癌, 严重威胁人民的生命健康[3]. 由于目前尚无特异治疗方案, 对其发病机制的研究以及对于预防及治疗NASH有重要意义. 研究表明, 几乎所有NASH患者均伴随着胰岛素抵抗[4,5], 而近年发现的脂联素是一种由脂肪组织分泌的胰岛素增敏化激素, 在肥胖、胰岛素抵抗、Ⅱ型糖尿病患者中, 脂联素含量下降[6,7]. 血清中脂联素蛋白主要以低聚体(low molecular weight, LMW)、中聚体(middle molecular weight, MMW)和高聚体(high molecular weight, HMW)3种形式存在, 其中HMW被认为是最主要活性成分[8]. 2004年, Scherer课题组提出脂联素HMW/总量比值(S_A)与胰岛素敏感性高度正相关[9]. 但脂联素水平, 尤其是脂联素的多聚体水平是否与NASH相关尚不清楚. 本研究检测了青年男性NASH患者血清脂联素总量及多聚体水平, 并进一步探讨了脂联素在NASH发生发展中的作用.

1 材料和方法

1.1 *材料* 64例NASH患者均来自2011-07/2012-12在清华大学医院就诊的患者, 男, 年龄18-39岁, 平均年龄24.4岁. 所有入选患者均符合2010年修订的《非酒精性脂肪性肝病诊疗指南》[10]的诊断标准, 即无饮酒史或饮酒折合乙醇量<140 g/wk, 排除病毒性肝炎、药物性肝炎、自身免疫性肝病、肝豆状核变性、全胃肠外营养等可导致脂肪肝的特定疾病, 腹部彩超证实脂肪肝存在, 血清谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)和谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)持续增高超过半年. 正常对照组46例, 来自清华大学医院体检人员, 男, 年龄19-27岁, 平均年龄22.1岁, 两组年龄经统计学处理无显著性差异(P>0.05).

1.2 *方法* 研究对象在试验前日晚清淡饮食, 禁止饮酒, 采集隔夜空腹静脉血5 mL, 全自动生化分析仪当天完成测定指标, 测量指标包括ALT、AST、谷酰转肽酶(glutamyle transpeptidase, GGT)、总胆固醇(total cholesterol, TCHO)、甘油三酯(triglyceride, TG)、高密度脂蛋白(high-density lipoprotein, HDL)、低密度脂蛋白(low-density lipoprotein , LDL)、血糖(glucose, Glu)、空腹胰岛素(fasting insulin, FINS). 预留血清、-80 ℃冰箱保存备测血清脂联素; 脂联素总量测定采用酶联免疫吸附法(ELISA), 将血清按1∶50000稀释包被在96孔酶标板上, 并用能够识别脂联素高、中、低3种聚体的抗体进行检测. 检测结果将一正常人血清脂联素读值设为1, 其他样品读数相对于此正常人样品读数换算, 记录相对值. 脂联素各聚体检测: 通过Western blot的方法, 配制2%-15%的梯度胶在非还原非变性的条件下进行凝胶电泳, 用能识别脂联素3种聚体的抗体检测, NIH Image J软件分析Western blot条带[11]. 计算指标: 体质量指数(body mass index, BMI) = 体质量(kg)/身高的平方(m^2); 脂联素高聚体占总量比例(S_A) = 脂联素高聚体/总量.

统计学处理 采用SPSS19.0软件分析, 检验各组变量的正态分布情况, 包括脂联素总量、脂联素高聚体/总量比值等指标均符合连续正态分布. 计量资料以mean±SD表示, 两组间均数的比较采用t检验, 多组间均数比较采用单因素方差分析(两两比较采用LSD方法), 脂联素的相关因素分析采用Pearson相关分析, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

NASH患者组和对照组血转氨酶、血糖及脂

■研发前沿
已有研究表明, NASH患者均伴随着胰岛素抵抗, 而近年发现的脂联素是一种胰岛素增敏化激素, 由于其在调节血糖血脂、抗炎症反应中表现出的巨大潜力受到越来越多的关注, 也成为该领域的研究热点. 探究脂联素与NASH发病的关系对于研究和治疗NASH具有重要价值.

■创新盘点

从研究群体来看，根据既往报道，中青年男性可能是NASH的相对易感人群，对此类人群的研究更具针对性. 而从脂联素与NASH发病关系来看，类似的报道多从脂联素总量与NASH关系分析，而本研究就脂联素各聚体分离，证明脂联素高聚体占总量的比例与NASH密切相关.

表 1 NASH组与对照组肝功酶、血糖、脂联素总量及高聚体/总量(S_A)结果比较

分组	n	谷丙转氨酶(U/L)	谷草转氨酶(U/L)	血糖(mmol/L)	脂联素总量	脂联素S_A
NASH组	64	102.68±54.05	45.90±22.02	5.50±1.72	0.92±0.17	0.39±0.14
对照组	46	12.57±5.31	17.76±4.92	4.79±0.29	1.02±0.16	0.47±0.11
*P*值		<0.001	<0.001	0.007	0.002	0.002

NASH: 非酒精性脂肪性肝炎.

表 2 NASH不同组别脂联素总量及脂联素S_A结果比较

分组	n	脂联素总量	脂联素S_A
重度组	12	0.83±0.15[bd]	0.34±0.12[f]
中度组	26	0.92±0.15[b]	0.38±0.16[f]
轻度组	23	0.98±0.17	0.41±0.14
对照组	46	1.02±0.16	0.47±0.11

[b]*P*<0.01 *vs* 对照组; [d]*P*<0.01 *vs* 轻度组; [f]*P*<0.01 *vs* 对照组. NASH: 非酒精性脂肪性肝炎.

联素总量检测结果见表1，NASH组肝功酶学指标ALT、AST和血糖Glu均显著高于对照组(*P*<0.01)，而脂联素总量显著低于对照组(*P*<0.01).

通过Western blot检测NASH患者和对照组血清中脂联素蛋白高、中、低各种聚体，结果如图1所示. 不同组别脂联素中、低聚体差别不大，高聚体变化明显. 其中正常组(第1、3道)高聚体含量普遍较高，重度NASH患者(第2、4道)高聚体普遍较低，轻度(5、6道)和中度(7、8道)NASH患者高聚体含量居于重度患者及对照组之间，并会表现出一定的个体差异，如轻度组第5道患者体质量指数较低、B超检验结果为轻微脂肪肝，其脂联素高聚体含量则更接近正常人. 通过计算NASH组与对照组脂联素高聚体/总量(S_A)，由表1可见，NASH组脂联素S_A显著低于对照组(*P*<0.01) .

按彩色三维B超检验结果将NASH患者及对照组分成：第1组(重度)、第2组(中度)、第3组(轻度)、第4组(对照)，检验各组间脂联素总量及脂联素S_A差异，结果如表2所示. 脂联素总量的比较中，第1组显著低于第3、4组，第2组显著低于对照组(*P*<0.01). 对于脂联素S_A，随着NASH严重程度的减弱S_A值逐渐升高，其中第1、2组S_A均显著低于对照组(*P*<0.01).

在NASH患者中，脂联素及脂联素S_A与血糖、血脂、肝功酶检测指标的相关性见表3，脂联素总量与TCHO、LDL呈负相关(分别*P*<0.01和*P*<0.05)，脂联素S_A与BMI呈负相关(*P*<0.05)，与HDL呈正相关(*P*<0.05).

表 3 脂联素及脂联素S_A与血糖、血脂、肝功酶检测指标的Pearson相关性分析

	脂联素总量		脂联素高聚体/总量(S_A)	
	*r*值	*P*值	*r*值	*P*值
体质量指数	−0.122	0.345	−0.279[a]	0.028
谷丙转氨酶	0.010	0.939	0.064	0.615
谷草转氨酶	0.072	0.574	0.045	0.725
谷酰转肽酶	−0.057	0.673	0.049	0.716
总胆固醇	−0.358[b]	0.007	0.199	0.146
甘油三酯	−0.121	0.379	0.011	0.937
高密度脂蛋白	−0.010	0.941	0.266[a]	0.046
低密度脂蛋白	−0.339[a]	0.011	0.202	0.138
血糖	−0.168	0.212	−0.067	0.618
空腹胰岛素	0.139	0.304	0.017	0.898

[a]*P*<0.05; [b]*P*<0.01.

3 讨论

随着人们生活水平的提高和饮食结构的改变，脂肪肝已成为我国最常见的慢性疾病之一，据报道我国30-40岁城镇中青年男性居民中1/4患有脂肪肝[2]. 而脂联素作为一种在血液中大量存在的胰岛素增敏化激素，由于其在调节血糖血脂、抗炎症反应中表现出的巨大潜力受到越来越多的关注[12]. 本研究结果显示，患有NASH的青年男性患者血清脂联素含量显著低于正常人，这与既往发现一致[13]. 在血清中，脂联素3种聚体通过激活不同信号通路来发挥不同作用[8]. Tsao等和Kadowaki等[14,15]已经证明脂联素高聚体与外周组织胰岛素敏感性有非常密切正相关，是脂联素调节糖脂代谢的主要活性成分. 本研究结果证明，脂联素高聚体占总量比例与非酒精性脂肪性肝炎密切相关. 在NASH患者中，脂联素高聚体所占比例低于正常组，并随着NASH严重程度的增加，高聚体含量逐渐减少. 这种相关性之前在肥胖[16]、Ⅱ型糖尿病[17]人群中曾有相似的报道，

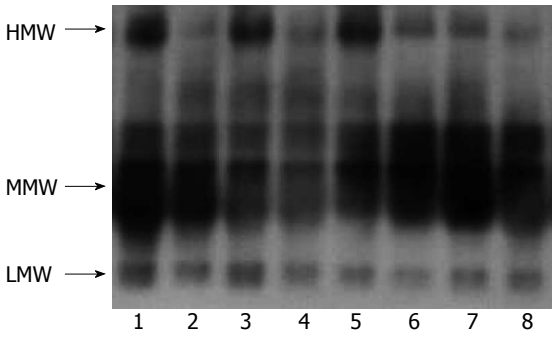


图 1 Western blots检测不同程度NASH患者及对照组脂联素蛋白各聚体. 1, 3: 对照组; 2, 4: 重度脂肪肝; 5, 6: 轻度脂肪肝; 7, 8: 中度脂肪肝. HMW: 高聚体; MMW: 中聚体; LMW: 低聚体.

但脂联素高聚体比例与NASH的关系很少有报道. 本研究结果提示, 脂联素作为一种有活性的脂肪细胞因子, 在血清中的含量, 尤其是高聚体所占比例, 可能在NASH的发展中起重要作用.

尽管目前对NASH有很多报道, 但对其机制的研究尚不完全明确. 一些研究者认为, NASH的发展过程中有两个关键点: 肝脏脂肪过度堆积和活性氧产生、肝内脂质过氧化[1]. 本研究发现, 脂联素总量与总胆固醇、低密度脂蛋白负相关, 结果与之前报道一致[18], 而脂联素高聚体所占比例与高密度脂蛋白正相关, 这在之前报道中未发现. 此外, 在游离脂肪酸氧化形成活性氧的过程中, 过氧化物酶体增殖激活受体α(peroxisome proliferators-activated receptors α, PPARα)、肿瘤坏死因子α等发挥重要调节作用, 炎症因子与抗炎因子的失衡易造成氧化压力导致肝细胞损伤[1,19]. 脂联素在肝脏细胞表面存在脂联素受体AdipoR2, 通过脂联素受体可以激活PPARα通路, 增强脂肪酸β氧化, 降低肝脏甘油三酯含量[20]. 同时有报道表明, 脂联素在保护肝脏减轻炎症反应中发挥重要作用[21]. 因此血清脂联素总量及高聚体比例可能与NASH发生发展密切相关, 针对脂联素或脂联素受体调控研究为深入了解NASH机制, 治疗NASH提供了新思路.

4 参考文献

1 Jansen PL. Nonalcoholic steatohepatitis. *Neth J Med* 2004; 62: 217-224 [PMID: 15554595]
2 白文元, 李宁, 白研. 非酒精性脂肪性肝病诊治进展. 胃肠病学 2007; 12: 713-716
3 范建高. 非酒精性脂肪性肝炎. 现代医药卫生 2001; 17: 511
4 Pagano G, Pacini G, Musso G, Gambino R, Mecca F, Depetris N, Cassader M, David E, Cavallo-Perin P, Rizzetto M. Nonalcoholic steatohepatitis, insulin resistance, and metabolic syndrome: further evidence for an etiologic association. *Hepatology* 2002; 35: 367-372 [PMID: 11826410 DOI: 10.1053/jhep.2002.30690]
5 Chitturi S, Abeygunasekera S, Farrell GC, Holmes-Walker J, Hui JM, Fung C, Karim R, Lin R, Samarasinghe D, Liddle C, Weltman M, George J. NASH and insulin resistance: Insulin hypersecretion and specific association with the insulin resistance syndrome. *Hepatology* 2002; 35: 373-379 [PMID: 11826411 DOI: 10.1053/jhep.2002.30692]
6 Maeda N, Shimomura I, Kishida K, Nishizawa H, Matsuda M, Nagaretani H, Furuyama N, Kondo H, Takahashi M, Arita Y, Komuro R, Ouchi N, Kihara S, Tochino Y, Okutomi K, Horie M, Takeda S, Aoyama T, Funahashi T, Matsuzawa Y. Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP30. *Nat Med* 2002; 8: 731-737 [PMID: 12068289 DOI: 10.1038/nm724]
7 Daimon M, Oizumi T, Saitoh T, Kameda W, Hirata A, Yamaguchi H, Ohnuma H, Igarashi M, Tominaga M, Kato T. Decreased serum levels of adiponectin are a risk factor for the progression to type 2 diabetes in the Japanese Population: the Funagata study. *Diabetes Care* 2003; 26: 2015-2020 [PMID: 12832305]
8 Pajvani UB, Du X, Combs TP, Berg AH, Rajala MW, Schulthess T, Engel J, Brownlee M, Scherer PE. Structure-function studies of the adipocyte-secreted hormone Acrp30/adiponectin. Implications fpr metabolic regulation and bioactivity. *J Biol Chem* 2003; 278: 9073-9085 [PMID: 12496257 DOI: 10.1074/jbc.M207198200]
9 Pajvani UB, Hawkins M, Combs TP, Rajala MW, Doebber T, Berger JP, Wagner JA, Wu M, Knopps A, Xiang AH, Utzschneider KM, Kahn SE, Olefsky JM, Buchanan TA, Scherer PE. Complex distribution, not absolute amount of adiponectin, correlates with thiazolidinedione-mediated improvement in insulin sensitivity. *J Biol Chem* 2004; 279: 12152-12162 [PMID: 14699128 DOI: 10.1074/jbc.M311113200]
10 中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南(2010年修订版). 中华肝脏病杂志 2010; 18: 163-166
11 Li Y, Wang P, Zhuang Y, Lin H, Li Y, Liu L, Meng Q, Cui T, Liu J, Li Z. Activation of AMPK by berberine promotes adiponectin multimerization in 3T3-L1 adipocytes. *FEBS Lett* 2011; 585: 1735-1740 [PMID: 21536037 DOI: 10.1016/j.febslet.2011.04.051]
12 Rajala MW, Scherer PE. Minireview: The adipocyte--at the crossroads of energy homeostasis, inflammation, and atherosclerosis. *Endocrinology* 2003; 144: 3765-3773 [PMID: 12933646]
13 Hui JM, Hodge A, Farrell GC, Kench JG, Kriketos A, George J. Beyond insulin resistance in NASH: TNF-alpha or adiponectin? *Hepatology* 2004; 40: 46-54 [PMID: 15239085 DOI: 10.1002/hep.20280]
14 Tsao TS, Tomas E, Murrey HE, Hug C, Lee DH, Ruderman NB, Heuser JE, Lodish HF. Role of disulfide bonds in Acrp30/adiponectin structure and signaling specificity. Different oligomers activate different signal transduction pathways. *J Biol Chem* 2003; 278: 50810-50817 [PMID: 14522956 DOI: 10.1074/jbc.M309469200]
15 Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N, Hara K, Ueki K, Tobe K. Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *J Clin Invest* 2006; 116: 1784-1792 [PMID: 16823476 DOI: 10.1172/JCI29126]
16 Kantartzis K, Staiger H, Machann J, Schick F,

■应用要点
本研究结果对于深入探究NASH机制, 治疗及检测NASH提供了新思路.

■同行评价
本文研究青年男性NASH与血清脂联素的相关性. 该研究对于NASH病因学及治疗均有一定的实际意义.

Claussen CD, Machicao F, Fritsche A, Häring HU, Stefan N. Adiponectin oligomers and ectopic fat in liver and skeletal muscle in humans. *Obesity* (Silver Spring) 2009; 17: 390-392 [PMID: 19169222 DOI: 10.1038/oby.2008.487]

17 Liu Y, Retnakaran R, Hanley A, Tungtrongchitr R, Shaw C, Sweeney G. Total and high molecular weight but not trimeric or hexameric forms of adiponectin correlate with markers of the metabolic syndrome and liver injury in Thai subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 4313-4318 [PMID: 17698903 DOI: 10.1210/jc.2007-0890]

18 蒋海彬, 施亚雄. 脂联素与代谢综合征. 中国实用医药 2010; 5: 234-238

19 Kugelmas M, Hill DB, Vivian B, Marsano L, McClain CJ. Cytokines and NASH: a pilot study of the effects of lifestyle modification and vitamin E. *Hepatology* 2003; 38: 413-419 [PMID: 12883485 DOI: 10.1053/jhep.2003.50316]

20 Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, Tsuchida A, Yokomizo T, Kita S, Sugiyama T, Miyagishi M, Hara K, Tsunoda M, Murakami K, Ohteki T, Uchida S, Takekawa S, Waki H, Tsuno NH, Shibata Y, Terauchi Y, Froguel P, Tobe K, Koyasu S, Taira K, Kitamura T, Shimizu T, Nagai R, Kadowaki T. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature* 2003; 423: 762-769 [PMID: 12802337 DOI: 10.1038/nature01705]

21 Xu A, Wang Y, Keshaw H, Xu LY, Lam KS, Cooper GJ. The fat-derived hormone adiponectin alleviates alcoholic and nonalcoholic fatty liver diseases in mice. *J Clin Invest* 2003; 112: 91-100 [PMID: 12840063 DOI: 10.1172/JCI17797]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2013年5月8日; 21(13): 1261-1265
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

中国人肝淀粉样变性的临床特点

王慧慧, 田字彬, 丁雪丽, 荆 雪, 孔心娟, 张翠萍, 魏良洲, 赵清喜

王慧慧, 田字彬, 丁雪丽, 荆雪, 孔心娟, 张翠萍, 魏良洲, 赵清喜, 青岛大学医学院附属医院消化科 山东省青岛市 266003
王慧慧, 在读硕士, 主要从事消化系疾病的研究.
作者贡献分布: 此课题由田字彬与王慧慧设计; 资料分析和论文撰写由王慧慧、丁雪丽及荆雪完成; 临床资料的收集由孔心娟、张翠萍、魏良洲及赵清喜完成; 文献检索由王慧慧完成; 审校由田字彬完成.
通讯作者: 田字彬, 教授, 266003, 山东省青岛市江苏路16号, 青岛大学医学院附属医院消化科. tianzb@qdumh.qd.sd.cn
电话: 0532-82911302
收稿日期: 2013-02-14 修回日期: 2013-03-08
接受日期: 2013-04-07 在线出版日期: 2013-05-08

Clinical characteristics of hepatic amyloidosis in Chinese patients

Hui-Hui Wang, Zi-Bin Tian, Xue-Li Ding, Xue Jing, Xin-Juan Kong, Cui-Ping Zhang, Liang-Zhou Wei, Qing-Xi Zhao

Hui-Hui Wang, Zi-Bin Tian, Xue-Li Ding, Xue Jing, Xin-Juan Kong, Cui-Ping Zhang, Liang-Zhou Wei, Qing-Xi Zhao, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Qingdao University Medical College, Qingdao 266003, Shandong Province, China
Correspondence to: Zi-Bin Tian, Professor, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Qingdao University Medical College, 16 Jiangsu Road, Qingdao 266003, Shandong Province, China. tianzb@qdumh.qd.sd.cn
Received: 2013-02-14 Revised: 2013-03-08
Accepted: 2013-04-17 Published online: 2013-05-08

Abstract

AIM: To investigate the clinical characteristics of hepatic amyloidosis in Chinese patients.

METHODS: Relevant data for Chinese patients with hepatic amyloidosis diagnosed from 1981 to 2012 were retrieved from a Chinese biomedical database and analyzed.

RESULTS: Major clinical manifestations of hepatic amyloidosis were unspecific, including fatigue, abdominal distension, anorexia and weight loss. Hepatomegaly (95.5%), splenomegaly (34.8%) and shifting dullness (42.4%) were common in physical examination. Laboratory tests often revealed apparently elevated serum alkaline phosphatase (662.94 U/L ± 620.86 U/L; 80.3%) and glutamyltranspeptidase (687.34 U/L ± 873.91 U/L; 71.2%). Approximately 76.2% of patients had either a serum or urine monoclonal protein. Liver biopsy is the golden standard for the diagnosis of this disease. The Congo red staining was often positive. Amyloid deposition was mainly located in the sinusoid and interstitium (54.8%). The misdiagnosis rate was 45.5%. The major cause of death was multiple organic failure.

CONCLUSION: Patients with hepatic amyloidosis often show no specific clinical manifestations or laboratory and imaging features, which results in a high misdiagnosis rate. When a patient has hepatomegaly and elevated alkaline phosphatase and glutamyltranspeptidase, hepatic amyloidosis should be considered even if other liver function parameters are almost normal. Liver biopsy has been suggested to be the only means to confirm the diagnosis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Liver; Amyloidosis; Misdiagnosis; Biopsy

Wang HH, Tian ZB, Ding XL, Jing X, Kong XJ, Zhang CP, Wei LZ, Zhao QX. Clinical characteristics of hepatic amyloidosis in Chinese patients. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(13): 1261-1265 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1261.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i13.1261

摘要

目的: 分析中国人肝淀粉样变性的临床特点, 提高临床诊断率.

方法: 在中国医学文献数据库(CNKI)中检索1981-2012年中国人肝淀粉样变性临床资料并进行回顾性分析.

结果: 临床表现主要为乏力、腹胀、纳差、消瘦等非特异性症状. 体格检查中肝大(95.5%), 脾大(34.8%), 移动性浊音(42.4%)多发. 实验室检查中碱性磷酸酶明显升高, 平均662.94 U/L±620.86 U/L(80.3%), 谷氨酰转肽

■背景资料
肝淀粉样变性临床误诊率高, 其原因主要是对肝淀粉样变性的认识不足, 肝淀粉样变性临床表现错综复杂, 临床特点及影像学检查缺乏特异性, 少数情况只浸润单一器官. 早期诊断治疗有助于延长患者生存期.

■同行评议者
姚鹏, 副教授, 北京军区总医院全军肝病中心; 张占卿, 主任医师, 上海市(复旦大学)公共卫生中心(肝脏病学, 传染病学)

■研发前沿
肝淀粉样变性的发病机制尚不十分明确，每种类型的肝淀粉样变性发病机制均不相同. 认为年龄与肝淀粉样纤维形成有关，存在一个与年龄相关的触发点，一旦发病则进展迅速. 性别与肝淀粉样变性无明显关系.

酶升高，平均687.34 U/L±873.91U/L (71.2%). 轻链检测阳性率为76.2%. 活检病理检查是唯一确诊手段，刚果红染色阳性，淀粉样物质沉积主要部位在窦状隙和间质(54.8%). 66例患者中，误诊率达45.5%，死亡原因主要是心、肝、肾多脏器功能衰竭.

结论: 肝淀粉样变性临床表现、辅助检查缺乏特异性，临床误诊率高. 肝脏明显肿大伴碱性磷酸酶、谷氨酰转肽酶明显升高，其他肝功指标轻度异常时，应考虑肝淀粉样变性，及时肝活检可以避免误诊.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 肝脏; 淀粉样变性; 误诊; 活检

核心提示: 肝淀粉样变性通常表现不明原因的体重减轻、早饱、右上腹饱胀，肝脏明显肿大、碱性磷酸酶升高. 电子计算机体层摄影(computer tomography)、核磁共振成像(nuclear magnetic resonance imaging)等影像学检查无特异性改变. 肝淀粉样变性临床表现、辅助检查缺乏特异性，临床误诊率高. 应注意同肝硬化、肝癌等疾病的鉴别. 病理检查为肝淀粉样变性确诊的唯一依据. 肝脏明显肿大伴碱性磷酸酶、谷氨酰转肽酶明显升高，其他肝功指标轻度异常时，应考虑肝淀粉样变性，及时肝活检可以避免误诊.

王慧慧, 田宇彬, 丁雪丽, 荆雪, 孔心娟, 张翠萍, 魏良洲, 赵清喜. 中国人肝淀粉样变性的临床特点. 世界华人消化杂志 2013; 21(13): 1261-1265 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1261.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i13.1261

0 引言

淀粉样变性是多种原因引起的一组临床症候群，其特点为特异性糖蛋白纤维即淀粉样物质在细胞外组织中沉积，可以沉积在局部或全身多器官，病程可呈良性或恶性. 淀粉样物质侵犯肝脏，沉积于肝细胞之间或网状纤维支架时称为肝淀粉样变性. 肝脏是淀粉样变性最常侵犯的部位之一. 肝淀粉样变性误诊率高，原因主要为临床表现缺乏特异性，且临床医师对其认识不足，延误诊治. 本文收集了国内64例确诊肝淀粉样变性的个案报道[1-15]，结合我院消化科确诊的2例肝淀粉样变性，对其临床特点进行分析，以指导早期诊断.

1 材料和方法

1.1 材料 以“肝淀粉样变”或“淀粉样变性”为主题词，检索在中国知网(CNKI)全文数据库、万方数据库、中国生物医学文献数据库、维普数据库等公开发表的中文文献，并辅以文献追溯和手工检索的方法，对相关的参考文献严格按照文献纳入、排除标准来筛选. 文献纳入标准: (1)有关肝淀粉样变性的个案报道; (2)患者病史、体格检查、辅助检查等临床资料详尽; (3)经活检病理证实为肝淀粉样变性; (4)对重复报道的文献，选择其中最为详尽的报道文献进行分析. 文献排除标准: (1)临床特点分析及回顾性研究，无具体病例资料; (2)其他器官淀粉样变性，或未经病理证实合并肝淀粉样变性者; (3)病例资料交代不清楚.

1.2 方法 对肝淀粉样变性患者的一般资料、疾病分类、临床表现、辅助检查、确诊方法、误诊情况、治疗及预后各方面进行回顾性分析.

统计学处理 采用SPSS17.0统计软件进行处理，计数资料采用百分率表示，计量资料采用mean±SD表示.

2 结果

2.1 一般资料 收集符合标准的文献原文，统计共64例，我院消化科确诊2例，共66例. 其中男41例，女25例，年龄15-76岁，平均51.1岁.

2.2 分类 原发性64例，均未发现自身免疫病、慢性感染、恶性肿瘤或其他相关伴随病证据，无家族遗传病史. 继发性2例，继发于多发性骨髓瘤，其中1例行高锰酸钾试验.

2.3 临床表现 最常见的主诉症状依次为: 乏力(69.7%)，腹胀(69.7%)，纳差(56.1%)，体质量下降(47.0%)，双下肢水肿(30.3%)(表1). 66例肝淀粉样性患者，除肝、脾受累外，还同时有肾脏、心脏及皮肤等受累的表现. 以上受累脏器中，以肾脏受累最多，占53.0%. 心脏其次，占34.8%(表2). 肝大63例(95.5%)，脾大23例(34.8%).

2.4 实验室检查 白蛋白降低者占54.5%，平均25.31 g/L±5.80 g/L. 碱性磷酸酶升高者占80.3%，平均662.94 U/L±620.86 U/L; 谷氨酰转肽酶升高者占71.2%，平均687.34 U/L±873.91 U/L; 天冬氨酸转氨酶升高者占54.5%，平均115.53 U/L±85.31 U/L; 丙氨酸转氨酶升高者占27.3%，平均142.07 U/L±158.21 U/L; 总胆红素升高者占47.0%，平均127.62 μmol/L±175.66 μmol/L，其中61.3%以直接胆红素升高为主. 尿蛋白阳性者占63.6%. 15例记录24 h尿蛋白结果，平均4.96 g/24 h±6.47 g/24 h. 28例血红蛋白降低，其中男19例，平均67.70 g/L±32.15 g/L; 女9例，平均

表 1 66例肝淀粉样变性患者临床表现

主要临床表现	n	发生率(%)
一般表现		
乏力	46/66	69.7
体质量下降	31/66	47.0
累及肝脏表现		
腹胀	46/66	69.7
纳差	37/66	56.1
皮肤巩膜黄染	13/66	19.7
腹痛	13/66	19.7
恶心	7/66	10.6
上腹包块	7/66	10.6
尿黄	6/66	9.1
累及其他脏器表现		
双下肢水肿	20/66	30.3
尿少	11/66	16.7
心悸、气促	6/66	9.1

85.54 g/L±18.02 g/L. 分别有15例患者出现白细胞、血小板增多. PT延长者占18.2%. 平均19.33 s±5.21 s. 共有23例血沉增快, 其中男15例, 平均64.73 mm/h±27.07 mm/h, 女8例, 平均51.88 mm/h±38.72 mm/h. 25例患者行血脂检查, 发现18例血脂升高, 阳性率为75.0%. 21例患者通过免疫电泳, 尿本周蛋白或血、尿轻链定量等进行轻链检测, 有16例为阳性, 阳性率为76.2%, 5例行尿本周蛋白检测为阴性(表3).

2.5 其他辅助检查 骨髓穿刺: 29名患者行骨穿检查, 其中2例提示多发性骨髓瘤, 另有浆细胞增多者9例; B超和电子计算机体层摄影(computer tomography, CT)等影像学检查: 缺乏特异性, 多数提示肝、脾体积增大, 性质不明.

2.6 确诊方法 组织病理检查是确诊的依据. 66例患者均通过肝穿、手术取大体标本活检或尸检, 刚果红染色阳性, 最后确诊为肝淀粉样变性. 淀粉样物质沉积部位以窦状隙和间质为主者23例, 占54.8%, 广泛沉积于小叶及汇管区者13例, 占30.9%, 以血管壁为主者6例, 占14.3%, 其余24例未详细描述沉积部位.

2.7 误诊情况 66例患者中, 30例曾被误诊, 误诊率达45.5%. 其中, 误诊为肝硬化者12例, 占40.0%, 误诊为原发性肝癌者5例, 占16.7%. 其他误诊为脂肪肝、慢性肝炎、布加氏综合征、慢性肾炎和缩窄性心包炎等.

2.8 治疗和预后 66例肝淀粉样变病患者, 虽然经细胞毒性药物、对症支持、肝移植等多种治疗, 但预后欠佳. 能追踪到的死亡患者有20例, 从起病到死亡, 平均时间仅7.7 mo. 其中4例因出院后未复诊, 死亡原因不详. 2例患者行肝移植, 均死于移植术后继发肺部感染. 余14例死亡原因主要是肾衰、心衰、肝衰等致多脏器功能衰竭, 占42.9%, 其他死亡原因还包括消化系出血、失血性休克、肺部感染以及胆道感染致感染性休克等.

表 2 66例肝淀粉样变性患者受累部位

受累部位	n
肾脏	35
心脏	23
皮肤	5
骨髓	4
胃肠	3
胰腺	2
X因子缺乏	2
眼外肌	1
肺	1
子宫	1
肾上腺	1
血管	1

3 讨论

肝淀粉样变性发病率很低, 仅为0.7%[16]. 发病年龄>40岁, 男多于女[17]. 本文66例肝淀粉样变性患者平均年龄为51.1岁, 男女之比为1.64∶1, 与文献报道相符.

66例肝淀粉样变性患者中, 64例均未发现自身免疫病、慢性感染或其他伴随病, 无家族遗传史, 考虑为原发性可能性大. 2例经骨髓穿刺证实继发于多发性骨髓瘤. 原发性及继发于多发性骨髓瘤的淀粉样变性属AL型淀粉样变性, 与浆细胞过度增生有关, 蛋白前体为单克隆免疫球蛋白轻链. 前体蛋白异常折叠, 形成一种高度异常的纤维构型, 并自动聚集成原纤维. 前体蛋白能形成淀粉样原纤维在部分实验中已得到证实[18]. 原纤维为不溶性, 沉积于不同组织及细胞外, 破坏了正常组织结构, 既剥夺细胞的生存空间又削弱器官的功能, 同时淀粉样纤维有一定的细胞毒性, 能促进细胞凋亡[19], 形成不同组织器官的淀粉样变性和临床表现.

肝淀粉样变性多合并其他器官受累, 肾脏受累最常见, 表现为肾病综合征、肾功能下降; 其次为心脏受累, 表现为充血性心衰、心律失常等. 肝淀粉样变性临床症状多为非特异性, 表

■应用要点
国内有关肝淀粉样变性的文献多为个案报道或小样本临床特点分析,此文针对国内确诊肝淀粉样变性的个案报道, 进行回顾性研究, 对指导临床医师进一步了解肝淀粉样变性的临床特点有重要意义.

■同行评价
本文选题贴近临床实践, 有一定参考价值.

表 3 66例肝淀粉样变性患者实验室检查结果

实验室检查	*n*	发生率(%)
肝功能		
白蛋白降低(< 35 g/L)	36/66	54.5
碱性磷酸酶升高(> 125 U/L)	53/66	80.3
谷氨酰转肽酶升高(> 64 U/L)	47/66	71.2
天冬氨酸转氨酶升高(> 42 U/L)	36/66	54.5
丙氨酸转氨酶升高(> 60 U/L)	18/66	27.3
总胆红素升高(> 17.1 μmol/L)	31/66	47.0
尿蛋白阳性	42/66	63.6
血红蛋白降低	28/66	42.4
PT延长	12/66	18.2
血沉增快	23/66	34.8
血脂	18/24	75.0
轻链检测	16/21	76.2

现为乏力、腹胀、纳差、体质量下降等, 双下肢水肿与肾病综合征引起低蛋白血症或心衰、梗阻性肝病有关. 体格检查往往表现为肝脾重度肿大. 辅助检查有意义的有: 肝功能损害轻微, 以碱性磷酸酶、谷氨酰转肽酶明显升高, 且升高程度与肝脏大小不成正比为特点; 白蛋白下降, 与肝脏合成减少, 尿液中丢失有关; 尿蛋白阳性, 与肾脏受累有关; 血常规提示中度贫血; 血沉增快; 血脂升高; 血或尿免疫固定电泳等轻链检测阳性; 骨髓穿刺提示浆细胞增多或多发性骨髓瘤.

目前淀粉样变性无特异性的治疗方法. 以对症、支持治疗为原则, 抑制淀粉样物质的产生和异常沉积是治疗的目的. 标准的治疗方案是口服美法仑和泼尼松, 就总体而言治疗效果并不理想. 某些细胞毒性药物也被证实具有减少淀粉样物质沉积的作用[20]. 目前认为最有效的治疗方案是大剂量美法仑联合自体干细胞移植, 能有效改善AL型淀粉样变性患者的临床症状和器官功能, 有效延长患者中位生存期. 对于继发性肝淀粉样变性, 积极治疗诱发本病的原发疾病最为重要.

肝淀粉样变性预后差, 发病后未经治疗只能存活1-2年, 国外报道, 肝淀粉样变性的中位生存期是9 mo[21]. 累及肾脏、心脏等重要脏器, 导致充血性心衰、肾衰, 疾病本身可导致肝功能进行性衰竭. 晚期多死于继发感染、心功能不全或多脏器功能衰竭. 本文66例肝淀粉样变性患者, 追踪到的死亡患者有20例, 从起病到死亡, 平均时间是7.7 mo, 与国外报道相符. 死亡原因主要是肾衰、心衰、肝衰等多脏器功能衰竭.

肝淀粉样变性误诊率高, 应注意同肝硬化、肝癌等疾病的鉴别. 病理检查为肝淀粉样变性确诊的唯一依据. 临床怀疑肝淀粉样变性的患者, 如条件允许, 应及时行活检病理检查以明确诊断. 肝淀粉样变性往往合并身体其他部位淀粉样物质沉积, 也可以用腹部皮下脂肪针吸或直肠活检进行诊断, 这样可以有效降低肝穿出血等并发症的发生[22]. 肝淀粉样变性是一种少见病, 由于其临床表现、实验室检查和影像学检查缺乏特异性, 往往容易造成误诊. 但只要对该病有充分认识, 提高警惕, 及时进行活检, 就可以避免误诊.

4 参考文献

1 蔡瑞明, 严庆惠, 蔡晓青. 肝淀粉样变一例报告. 上海免疫学杂志 1981; 1: 42
2 赵洪川, 张道明, 张岚. 肝淀粉样变性2例报告. 中华肝病学会肝脏病杂志 1995; 3: 238
3 贾继珍, 王志强. 胸闷, 气短, 肝、脾、甲状腺肿大和腹水. 胃肠病学 1999; 4: 57-58
4 方秀才, 陶建瓴, 周旭东. 腹水、黄疸及少尿. 中华医学杂志 2001; 81: 629-632
5 马威, 赵景民, 王华明, 张军华, 韩铁铮. 肝脏淀粉样变性一例. 中华医学杂志 2002; 82: 466
6 蓝琳, 崔生达, 程天明, 白岚, 方容容. 肝淀粉样变性1例. 中华肝脏病杂志 2004; 12: 334
7 潘辰, 韩荔芬, 郑智勇. 肝严重淀粉样变一例. 中华传染病杂志 2004; 22: 282
8 郑瑞丹, 黄俊达, 杨铮, 徐成润. 肝内胆汁瘀积为主要表现的肝淀粉样变1例. 中国中西医结合消化杂志 2005; 13: 200
9 杨立新, 吕红, 钱家鸣. 肝淀粉样变4例报告并国内文献分析. 中国实用内科杂志 2006; 26: 217-219
10 曲巍, 尤荣开. 原发性肝淀粉样变性肝穿刺出血致死一例. 中华内科杂志 2007; 46: 902
11 陈阳, 王才. 肝脏淀粉样变性1例. 临床与实验病理学杂志 2008; 24: 755
12 李春雨. 肝淀粉样变性一例. 中华全科医师杂志 2009; 8: 206-207
13 郝礼森, 郭剑, 郑力博, 朱芳丽, 刘小娟, 张晓岚, 秦玉彩. 肝淀粉样变1例. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1287-1289
14 谷玉雷, 张水军, 赵永福, 冯留顺, 马秀现, 赵龙栓, 吴阳, 李捷. 原发性肝淀粉样变性合并重度肝内胆汁淤积性黄疸一例. 中华普通外科杂志 2011; 26: 271
15 劳敏曦, 王锦辉, 陈洁, 王淑冰, 陈旻湖. 肝淀粉样变性合并重度淤胆及角膜K-F环1例报告并文献复习. 中国实用内科学杂志 2012; 32: 721-723
16 闫军, 卢倩, 董家鸿. 肝肾序贯联合移植治疗淀粉样变性病(附1例报告). 消化外科 2004; 3: 307-333
17 郑琦, 江家骥, 刘豫瑞, 朱月永, 陈靖. 肝淀粉样变的临床和病理分析. 中国临床实用医学 2007; 1: 51
18 Adle-Biassette H, Vallat AV, Nochy D. [Amyloidosis: definition and classification]. *Arch Anat Cytol Pathol* 1996; 44: 101-105 [PMID: 8794589]
19 Urieli-Shoval S, Linke RP, Matzner Y. Expression and function of serum amyloid A, a major acute-phase protein, in normal and disease states. *Curr Opin Hematol* 2000; 7: 64-69 [PMID: 10608507 DOI: 10.1097/00062752-200001000-00012]

20 Kyle RA, Gertz MA. Primary systemic amyloidosis: clinical and laboratory features in 474 cases. *Semin Hematol* 1995; 32: 45-59 [PMID: 7878478]
21 姚健, 张国艳, 刘玉兰. 肝脏淀粉样变性. 胃肠病学和肝病学杂志 2004; 13: 191-192
22 Gillmore JD, Lovat LB, Hawkins PN. Amyloidosis and the liver. *J Hepatol* 1999; 30 Suppl 1: 17-33 [PMID: 10370897]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

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

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

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

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

世界华人消化杂志 2013年5月8日; 21(13): 1266-1272
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

γ–射线立体定向体部放射治疗局限期胰腺癌65例

康晓黎, 王颖杰, 邵银剑, 李宏奇, 李 平, 王济东, 王 轩, 夏廷毅

■背景资料
胰腺癌是常见的消化系恶性肿瘤, 但因其起病隐匿, 待肿瘤侵及或压迫胆道出现黄疸、或侵及周围组织出现疼痛症状而就诊时, 肿瘤往往已处于晚期. 确诊时20%可获手术切除, 超过40%的患者为局部进展期, 其余患者均伴有远处转移. 目前针对局部进展期胰腺癌采用常规放疗、单纯化疗、放疗+化疗等未见疗效明显改善, 仍有较高的远位转移和局部失败率, 中位生存期仅6-10 mo. 因此, 积极探索局部进展期胰腺癌的治疗方法具有重要的临床意义.

康晓黎, 河北北方学院研究生院 河北省张家口市 075000
王颖杰, 邵银剑, 李宏奇, 李平, 王济东, 王轩, 夏廷毅, 中国人民解放军空军总医院肿瘤放疗科 北京市 100142
康晓黎, 主要从事肿瘤放疗的临床研究.
首都医学发展科研基金资助项目, No. 2009-2057
作者贡献分布: 本课题由王颖杰设计; 资料标本收集由王颖杰、康晓黎及邵银剑完成; 实验过程由康晓黎、王颖杰、邵银剑、李宏奇、李平、王济东、王轩及夏廷毅完成; 实验结果判定由康晓黎与王颖杰完成; 写作由康晓黎完成; 修改与审校由王颖杰完成.
通讯作者: 王颖杰, 副教授, 副主任医师, 100142, 北京市海淀区阜成路30号, 空军总医院肿瘤放疗科. wangyj9999@163.com
电话: 010-68410099-6359
收稿日期: 2013-03-29 修回日期: 2013-04-14
接受日期: 2013-04-18 在线出版日期: 2013-05-08

Efficacy and toxicity of γ-ray stereotactic body radiation therapy in management of locally advanced pancreatic carcinoma: Our experience with 65 cases

Xiao-Li Kang, Ying-Jie Wang, Yin-Jian Shao, Hong-Qi Li, Ping Li, Ji-Dong Wang, Xuan Wang, Ting-Yi Xia

Xiao-Li Kang, Hebei North University, Zhangjiakou 075000, Hebei Province, China
Ying-Jie Wang, Yin-Jian Shao, Hong-Qi Li, Ping Li, Ji-Dong Wang, Xuan Wang, Ting-Yi Xia, Department of Radiation Oncology, Air Force General Hospital, Chinese PLA, Beijing 100142, China
Supported by: the Capital Medical Research and Development Foundation, No. 2009-2057
Correspondence to: Ying-Jie Wang, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Radiation Oncology, Air Force General Hospital, Chinese PLA, 30 Fucheng Road, Haidian District, Beijing 100142, China. wangyj9999@163.com
Received: 2013-03-29 Revised: 2013-04-14
Accepted: 2013-04-18 Published online: 2013-05-08

Abstract

AIM: To evaluate the efficacy and toxicity of γ-ray stereotactic body radiation therapy in the management of locally advanced pancreatic carcinoma, and to analyze factors affecting prognosis of locally advanced pancreatic carcinoma.

METHODS: Sixty patients with locally advanced pancreatic carcinoma who were treated with the γ-ray stereotactic body radiation therapy in our department were prospectively enrolled. Depending on tumor size, a total dose of 45-51 Gy was delivered at 3-5 Gy/fraction over 2-3 wk in 5 fractions per week to the 50% isodose line covering the planning target volume. Survival and prognostic factors were analyzed using the Kaplan-Meier method and Cox proportional hazard model, respectively. Univariate and multivariate analyses were performed to examine factors affecting clinical outcome.

RESULTS: Of all lesions, 15 (23%) completely disappeared, and 31 (48%) had a partial response. The total response rate was 71%. The overall 1-year survival rate was 52.4% and the median survival time was 13 mo. All patients tolerated the treatment well and completed the planned therapy. Grade Ⅰ acute gastrointestinal toxicity developed in 33 (51%) patients, and grade Ⅱ gastrointestinal toxicity was observed in 12 (18%) patients. Eighteen (28%) patients were diagnosed with grade Ⅰ leukocytopenia, and 5 (8%) patients had grade Ⅱ leukocytopenia. Multivariate analysis demonstrated that TNM stage and CA199 ≥ 425.8 U/mL were independent prognostic factors for pancreatic cancer.

CONCLUSION: γ-ray stereotactic body radiation therapy can result in a good curative effect and local control in the treatment of locally advanced pancreatic cancer. No severe adverse events occurred. TNM stage and CA199 ≥ 425.8 U/mL are independent prognostic factors for locally advanced pancreatic carcinoma.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Local advanced pancreatic cancer; γ-ray; Stereotactic body radiation therapy; Prognosis

Kang XL, Wang YJ, Shao YJ, Li HQ, Li P, Wang JD, Wang X, Xia TY. Efficacy and toxicity of γ-ray stereotactic body radiation therapy in management of locally advanced pancreatic carcinoma: Our experience with 65 cases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(13): 1266-1272 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1266.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i13.1266

■同行评议者
康春博, 副主任医师, 北京大学航天临床医院普通外科

摘要

目的: 观察γ-射线立体定向体部放射治疗局限期胰腺癌的疗效和放射治疗反应, 探讨影响其预后的相关因素.

方法: 这是一项前瞻性的临床研究, 对符合入组条件的65例局限期胰腺癌患者给予γ-射线立体定向体部放射治疗. 采用50%剂量线覆盖计划靶区(planning target volume, PTV), PTV边缘剂量3-5 Gy/次, 5次/wk, 总剂量45-51 Gy/2-3 wk的高分次剂量治疗模式. 生存分析采用Kaplan-Meier法, 多因素分析采用Cox比例风险回归模型, 分析影响患者预后的相关因素.

结果: 全组患者原发灶完全缓解率23%、部分缓解率48%, 总有效率为71%. 1年总生存率为52.4%, 中位生存期13 mo. 放疗后急性消化系反应, 1级为51%, 2级为18%, 未见3级不良反应. 骨髓抑制1级为28%, 2级为8%, 经对症处理后患者均能按计划完成治疗. 多因素分析结果显示TNM分期、治疗前CA199≥425.8 U/mL是胰腺癌患者独立预后因素.

结论: γ-射线立体定向体部放射治疗局限期胰腺癌采用3-5 Gy/次, 5次/wk, PTV边缘50%等剂量线处总剂量45-51 Gy的治疗模式是安全有效的, 对局限期胰腺癌可获得较好的局控率和生存率, 并可缓解疼痛, 提高生活质量. 其TNM分期、CA199水平可为胰腺癌的预后判定提供参考依据.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 局限期胰腺癌; γ-射线; 立体定向放射治疗; 预后

核心提示: 本文采用具有独特聚焦性的体部伽玛刀治疗局限期胰腺癌, 计划要求50%剂量线覆盖100%计划靶区(planning target volume, PTV), 采用PTV边缘剂量3-5 Gy/次, 5次/wk, 总剂量45-51 Gy/2-3 wk的高分次剂量短疗程治疗模式是安全有效的, 且可以提高胰腺癌患者的局控率, 总生存率及无进展生存期, 疼痛明显缓解, KPS评分明显改善, 生活质量提高.

康晓黎, 王颖杰, 邵银剑, 李宏奇, 李平, 王济东, 王轩, 夏廷毅. γ-射线立体定向体部放射治疗局限期胰腺癌65例. 世界华人消化杂志 2013; 21(13): 1266-1272 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1266.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i13.1266

0 引言

近几年胰腺癌发病率呈逐年增加趋势, 因其起病隐匿、病情进展快、恶性程度高, 而有“癌中之王”之称. 大量临床研究表明仅有10%-15%的患者可手术切除, 其中根治者仅占5.0%-7.5%, 胰腺癌患者中位生存时间不足6 mo, 5年生存率低于5%[1,2]. 文献报道[3-5]常规放疗+化疗以及手术+放化疗等多种治疗手段的联合也未显著提高胰腺癌患者的生存率. 随着放疗技术的发展, 精确放疗取得了巨大进步, 体部伽马刀作为我国自主创新的立体定向放射治疗(stereotactic body radiation therapy, SBRT)技术, 在胰腺癌的治疗方面获得了巨大的进步[6,7]. 选取2010-01/2012-07符合入组条件的65例局限期胰腺癌患者行γ-射线立体定向体部放射治疗, 初步效果良好, 现分析如下.

■研发前沿
目前应用体部伽玛刀技术, 采用高分次剂量短疗程的模式治疗不能手术的胰腺癌, 取得了很好的局控率.

1 材料和方法

1.1 材料 自2010-01/2012-07共65例局限期胰腺癌入组, 男患者36例, 女29例; 中位年龄62岁(29-80岁). 入院后进行详细的病史询问、体格检查和相关辅助检查, 包括血常规、肝肾功、肿瘤标志物、腹部增强CT/MRI、颈部超声等, 部分患者行PET/CT检查期. 65例患者均签署放疗知情同意书. 每周复查血常规、肝肾功能, 评估各种不良反应.

1.2 方法

1.2.1 入组标准: (1)年龄≤85岁; (2)KPS评分: 60-100分; (3)组织学或细胞学或临床诊断为局限期胰腺癌; (4)外科会诊无手术指征, 或因内科疾病不能手术, 或患者拒绝手术; (5)有梗阻黄疸已行减黄处理后; 无远处转移或无胃肠广泛浸润, 无腹水; (6)65例患者均签署知情同意书. 排除标准: (1)曾患其他恶性肿瘤; (2)有精神系统病变者; (3)有重要器官的严重疾病或严重感染; (4)受试者既往接受过放疗; (5)正在进行其他药物试验或入组前1 mo内参加其他新药临床试验者; (6)怀孕或哺乳期妇女、处于生育期而未采取有效避孕措施者.

1.2.2 治疗方法: 采用OUR-QGD型立体定向γ射线全身治疗系统, 简称体部γ刀(奥沃公司, 深圳). 定位前20 min口服浓度为2%的碘帕醇溶液100 mL, 以显示胃、十二指肠和小肠的位置. 患者取仰卧位, 双手上举置于额头前, 用体位固定床和真空负压垫固定体位, 固定胸腹部, 体表标记重复摆位点, 扫描前5-10 s静脉注射碘帕醇100 mL. 采用CT模拟定位技术, 在平静呼吸下行腹部CT增强扫描, 层厚5 mm, 层间距5 mm, 扫描

■相关报道
夏廷毅教授在国内较早开展了胰腺癌的体部伽马刀治疗, 为以后胰腺癌的体部伽马刀治疗及剂量模式的选择奠定了基础.

范围自膈顶至第四腰椎椎体水平, 包括肿瘤范围、淋巴引流区和有可能涉及到的区域如: 全肝、双侧肾脏、胃、十二指肠和部分肠道, CT图像经网络传输到全身γ刀治疗计划系统.由医生在增强CT图像上勾画靶区: 肿瘤靶区(gross target volume, GTV)(包括原发肿瘤和转移的淋巴结); 临床靶区(clinical target volume, CTV), 在GTV基础上外扩5 mm; 计划靶区(planning target volume, PTV), 在CTV基础上外扩5 mm; 勾画危及器官(肝脏、胃、十二指肠、小肠、肾脏、脊髓等).

计划要求50%剂量线覆盖100%PTV, PTV边缘剂量3-5 Gy/次, 5次/wk, 总剂量45-51 Gy/2-3 wk的高分次剂量治疗模式.危及器官限量: 十二指肠50 Gy< 3 cc, 45 Gy<5 cc; 小肠≤45 Gy; 胃50 Gy<5 cc, 45 Gy<10 cc; 脊髓≤30 Gy; 30%肝脏体积受照射剂量≤30 Gy; 30%双侧肾脏体积受照射剂量≤20 Gy, 10%双侧肾脏体积受照射剂量≤50 Gy. 对靶区和危及器官用剂量-体积直方图(dose-volume histogram, DVH)评价计划.

1.2.3 *疗效及不良反应评价*: 在治疗期间, 每周记录患者的临床症状改善情况和放射治疗反应: VAS法记录疼痛评分、KPS评分情况, 根据美国放射肿瘤治疗协作组(radiation therapy oncology group, RTOG)放射反应分级标准进行分级. 评估近期疗效参照世界卫生组织(world health organization)实体瘤通用评价方法完全缓解(complete response)、部分缓解(partial response)、疾病稳定(stable disease)和疾病进展(progressive disease)作为疗效评价标准.

1.2.4 *随访*: 所有患者在放疗结束后第1、3、6 mo复查, 以后每3 mo复查一次, 最后随访时间为2012-12, 中位随访时间10 mo(4-29 mo), 随访率100%.

统计学处理 应用SPSS17.0统计软件包进行统计分析. 对计量资料以中位数、mean±SD来描述, 对计数资料以例数、百分比来描述. 对局控率和生存率用Kaplan-Meier法计算, 组间生存率比较用Log-rank检验, 预后因素采用Cox多因素分析方法, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

65例患者按UICC 2002临床分期标准: Ⅱ期9例, Ⅲ期56例, 其中52例患者肿瘤位于胰头部, 13例位于胰体尾部. 18例经病理学诊断为腺癌, 1例为神经内分泌癌. 46例患者根据临床症状、影像学检查及肿瘤标志物检测诊断为胰腺癌. 其中49例行PET/CT检查确诊分期, 58例患者CA199超出正常范围之内, 全组患者CA199中位数为425.8 U/mL. 临床出现腹痛症状56例, 21例患者因黄疸就诊, 其中行胆肠吻合减黄术5例, 经皮肝穿刺胆道引流(percutaneous transhepatic cholangial drainage, PTCD), PTCD加胆道支架置入减黄16例, 行剖腹探查无手术指征行胆肠吻合术5例. 放疗中3例患者出现黄疸行PTCD加胆道支架置入术. 2例患者在放疗后1年后因黄疸行PTCD加胆道支架置入术. 49例患者治疗前体重下降超过5 kg. 治疗前患有糖尿病者21例, 临床资料见表1.

2.1 *近期疗效* 在放疗结束后1-3 mo全部病例行腹部增强CT检查, 部分患者3-6 mo后行PET-CT检查评价疗效(表2). 疼痛缓解率89%(50/56), KPS评分改善率92%(60/65).

2.2 *生存率* 全组患者1年总生存率为52.4%, 中位生存期13 mo, 1年局部无进展生存率为86.1%, 1年无远转生存率为37.4%.

2.3 *单因素风险分析* 单因素风险分析示TNM分期(P = 0.033)、治疗前CA199升高≥425.8 U/mL(中位数水平)(P = 0.000, 图1, 2)是影响胰腺癌患者预后的危险因素, 而性别、年龄、肿瘤部位、疼痛程度、PET-CT分期检查、行减黄手术、放疗前体质量下降程度、合并糖尿病与胰腺癌患者的预后无关(表3).

2.4 *Cox多因素分析* Cox多因素分析表明TNM分期、治疗前CA199的水平是胰腺癌患者能否获得长期生存的独立预后因素, 其中TNM分期越早的患者生存期越长, 确诊时CA199<425.8 U/mL的患者生存期明显长于CA199≥425.8 U/mL升高的患者(表4).

2.5 *放射治疗的不良反应* 急性放射反应: 消化系反应1级为51%(33/65), 2级为18%(12/65), 未见3级的反应. 血液系统反应骨髓抑制1级为28%(18/65), 骨髓抑制2级为8%(5/65). 所有的患者经对症支持治疗后症状基本消失, 均能按计划完成放射治疗. 晚期放射反应: 2例出现2级胃、十二指肠浅表性溃疡, 经内科给予抗炎、抑酸、营养等治疗后好转, 未见3级放射反应(表5).

2.6 *死亡因素分析* 在死亡的46例患者中, 因远处转移和/或多脏器功能衰竭死亡33例, 占72%(33/46). 因肿瘤未控或局部复发导致死亡11例, 占24%(11/46), 其中肿瘤进展致胃、出血死亡占82%(9/11), 胆道梗阻死亡占18%(2/11), 2例患者死于心脑血管疾病.

表 1 65例患者的临床资料 (*n*)

分组	*n*	百分比(%)
性别		
男	36	55
女	29	45
年龄(岁)		
<60	27	42
≥60	38	58
临床分期		
II期	9	14
III期	56	86
肿瘤部位		
头	52	80
体尾部	13	20
CA199(U/mL)		
≥425.8	33	51
<425.8	32	49
疼痛分级		
无痛(0分)	9	14
轻度(1-3分)	19	29
中度(4-6分)	16	25
重度(7-10分)	21	32
PET-CT分期		
是	49	75
否	16	25
胆肠吻合术		
是	10	15
否	55	85
PTCD+胆道支架置入术		
是	19	29
否	46	71
体质量下降		
是	49	75
否	16	25
糖尿病		
是	21	32
否	44	68

3 讨论

胰腺癌因其位置隐匿、早期症状不典型, 不易发现, 待肿瘤压迫胆道出现黄疸、或侵及周围组织出现疼痛症状而就诊时, 肿瘤往往已发展为晚期, 丧失手术治疗时机[8]. 本组65例患者, 其中56例III期患者因肿瘤侵及大血管(腹腔干或肠系膜上动脉)而无法行手术治疗, 余9例II期患者因高龄、合并内科疾病或存在手术风险的其他疾病, 经外科会诊为手术禁忌, 或患者及家属拒绝行手术治疗. 因胰腺癌对化疗药物不敏感, 且不良反应大, 加之胰腺癌患者多存在上消化系症状, 使用全身化疗后不良反应更加明显, 耐受差, 所以患者往往不愿意接受全身化疗. 到目前为止, 单一化疗可采用5-FU或吉西他滨等方案, 但效果均不理想[9,10]. 由于受到周围正常组织的剂量限制(如胃、十二指肠、小肠、脊髓、肾脏、脾脏等), 常规放疗很难达到肿瘤的根治性剂量, 随着精确放疗技术的发展, 在给予肿瘤致死剂量的同时能够很好的保护周围正常组织, 因此对于改善胰腺癌患者预后、提高生存率发挥着极其重要的作用. 随着伽马刀技术的应用[11,12], 其在聚焦方式、剂量分布、放射生物效应及适形度方面具有4方面优势: 对于胰腺癌的治疗存在着显著优势, 突破了胰腺癌放射治疗的瓶颈. OUR-QGD全身伽马刀有4大优势: (1)通过旋转锥面聚焦方式将30个钴-60放射源经准直器引导

表 2 放疗后患者的近期疗效%(*n*)

完全缓解	部分缓解	疾病稳定	疾病进展	客观缓解
23(15/65)	48(31/65)	28(18/65)	2(1/65)	71(46/65)

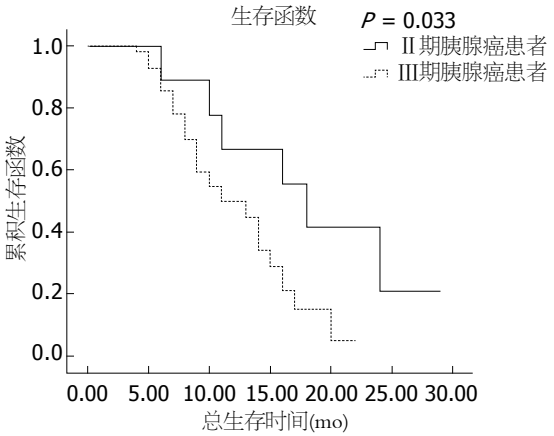


图 1 II期和III期患者的生存曲线分析.

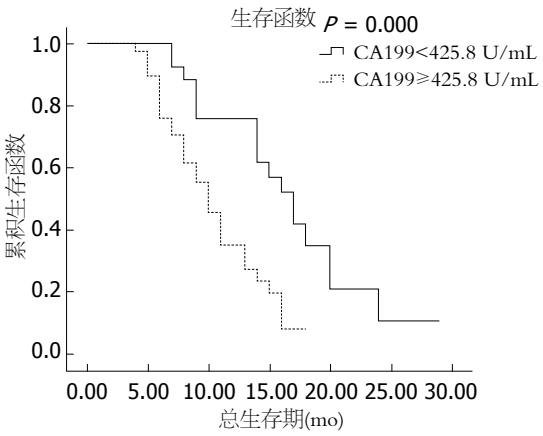


图 2 CA199≥中位数和<中位数的生存曲线分析.

■创新盘点

失去了手术机会的局部晚期胰腺癌患者, 传统治疗疗效不佳, 预后差, 生活质量下降, 病死率高. 应用我国自主知识产权的体部伽马刀技术, 采用高分次剂量短疗程的治疗模式, 达到了与手术切除相媲美的治疗结果, 且不良反应轻微, 生活获益率提高.

■应用要点
本研究为早期胰腺癌患者提供了手术之外的治疗手段, 为不能手术胰腺癌患者提供了放疗联合手术或化疗、靶向治疗、基因治疗的有利证据, 并证实了TNM分期、治疗前CA199升高≥425.8 IU/mL是胰腺癌患者体部伽马刀治疗长期生存的独立预后因素.

表 3 胰腺癌患者预后单因素分析

分组	*n*	百分比(%)	1年生存率(%)	中位生存时间(mo)	*P*值
性别					0.497
男	36	55	50.9	14	
女	29	45	54.4	13	
年龄(岁)					0.181
<60	27	42	37.8	11	
≥60	38	58	64.3	14	
临床分期					0.033
II期	9	14	66.7	18	
Ⅲ期	56	86	50.0	11	
肿瘤部位					0.400
头	52	80	56.0	14	
体尾部	13	20	38.9	10	
CA199(U/mL)					0.000
≥425.8	33	51	34.9	10	
<425.8	32	49	75.7	17	
疼痛分级					0.173
无痛(0分)	9	14	77.8	18	
轻度(1-3分)	19	29	57.4	13	
中度(4-6分)	16	25	39.1	9	
重度(7-10分)	21	32	45.0	11	
PET-CT分期					0.295
是	49	75	52.2	13	
否	16	25	53.0	14	
胆肠吻合术					0.890
是	10	15	60.0	14	
否	55	85	53.1	13	
PTCD+胆道支架植入术					0.943
是	19	29	51.0	13	
否	46	71	53.1	13	
体质量下降					0.368
是	49	75	48.5	16	
否	16	25	64.9	11	
糖尿病					0.203
是	21	32	58.1	16	
否	44	68	50.2	13	

向一点聚焦, 使焦点处受到持续性的高剂量照射, 焦点外受到瞬时低剂量照射; (2)剂量高度集中, 肿瘤范围形成高剂量平台, 剂量线以同心圆状向中心层层递增, 周边剂量下降陡峭, 类似于质子线的Bragg峰, 有利于靶外正常组织的保护; (3)伽马刀可实施高分次剂量短疗程放疗, 缩短总治疗时间, 避免肿瘤细胞的加速再增殖及再群体化; (4)适形度方面, 可通过不同孔径准直器的组合, 实现靶区的全面包裹, 肿瘤较小时采用单靶点照射.当肿瘤大, 形状不规则时采用多个不同大小准直器的多靶点拟合照射, 将准直器进行位置和权重的合理组合, 可获得理想的剂量分布, 具有更好的适形度.

本组65例局限期胰腺癌患者应用体部伽玛刀技术, 采用高分次剂量短疗程的治疗模式, 使得肿瘤剂量分布大大提升, 同时周围正常组织剂量明显下降. 56例患者在治疗初或治疗中具有上腹和/或腰背部疼痛症状, 50例在放疗期间疼痛缓解, 放疗后疼痛缓解率89%; 放疗有效率71%, 1年总生存率为52.4%, 中位生存期13 mo, 1年局部无进展生存率为86.1%; 1年无远转生存率为37.4%; 高于或等于国内外报道的SBRT治疗胰腺癌的结果[13-15], 也明显优于肖振中等[16]、党亚正等[17]的报道, 提示体部伽马刀高分次剂量

表 4 胰腺癌患者预后Cox多因素分析

危险因素	B	SE	Wald	*df*	Sig	Exp(B)
CA199	−1.156	0.349	10.961	1	0.001	0.315
临床分期	−1.019	0.487	4.370	1	0.037	0.361

短疗程模式治疗局限晚期胰腺癌可进一步提高患者生活质量, 改善局控率和生存率. 目前临床上TNM分期是公认的判断胰腺癌患者预后的指标之一. 本研究进一步验证了TNM分期是胰腺癌患者预后的独立性因素. 这一结果与张文仙等[18]报道的TNM分期是胰腺癌患者预后的独立危险因素的结果一致. 从最早Del Villano等[19]报道的CA199对胰腺癌的诊断意义, 最近大量的研究证实CA199是胰腺癌最敏感和特意的指标肿瘤标志物, 与胰腺癌患者肿瘤的负荷与转移有关[20-22]. Micke等[23]报道的95例不能手术切除的局部晚期胰腺癌患者接受同步放化疗, CA199的敏感性为100%, 特异性为88%.治疗前CA199水平低于中位值(420 U/mL)的患者生存期较高于中位值者明显延长. 本研究中, 低于CA199水平的中位值(425.8 U/mL)的患者生存期较高于中位值者明显延长(MST 17 mo *vs* 10 mo, $P = 0.000$), 多因素分析进一步证明CA199为胰腺癌独立的预后危险因素, 与文献报道相似[24,25]. 有无阻塞性黄疸多与胰腺癌患者的生存期相关[26,27], 但在本组临床资料中, 差异无统计学意义, 这可能是由于患者在出现黄疸早期已行胆道支架置入术或外科减黄手术治疗, 肝功能无明显受损, 使患者治疗的耐受性增加.

Schellenberg等[28]研究的高剂量的SBRT较传统放疗有较好的局控率但是晚期不良反应较重. 而本研究放疗副反应轻微, 这可能与合适的放疗剂量模式有关. 本研究表明这种高分次剂量短疗程、靶中靶治疗的模式, 不仅能使肿瘤靶区获得高剂量, 且能更好的保护胰腺周围正常组织, 降低了不良反应, 提高了肿瘤局控率, 从而提高了生存率. 本研究中死亡的46例患者中, 因远处转移并发多脏器功能衰竭而死亡33例, 占72%, 说明了远处转移是胰腺癌患者死亡的重要死因, 应进一步加强联合化疗、靶向、生物、基因等综合治疗的研究.

总之, 本研究表明采用体部伽玛刀治疗局限期胰腺癌的高分次剂量短疗程模式是安全的, 近期疗效较好, 不良反应轻微, 可缓解疼痛, 提高生活质量. 随着离线验证技术、限制呼吸动度技术, 更优的分割剂量模式的应用, 胰腺癌的治疗一定会获得更好的疗效.

表 5 放疗后患者的不良反应 (*n*)

毒性反应(分级)	0	1	2	3	4
急性反应					
消化系反应	20	33	12	0	0
血液学反应	42	18	5	0	0
晚期反应					
胃溃疡	64	0	1	0	0
十二指肠溃疡	63	0	2	0	0
十二指肠纤维化狭窄	0	0	0	0	0

■同行评价

本文具有一定的创新性与开拓性, 给无法手术切除的局限期胰腺癌提供了新颖的治疗方法, 该方法在疗效上确切, 又最大限度地减少了放疗的不良反应.

4 参考文献

1 夏廷毅, 康静波. 体部肿瘤伽玛刀治疗学. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 171-183
2 Goldstein D, Carroll S, Apte M, Keogh G. Modern management of pancreatic carcinoma. *Intern Med J* 2004; 34: 475-481 [PMID: 15317546 DOI: 10.1111/j.1444-0903.2004.00658.x]
3 Philip PA, Benedetti J, Corless CL, Wong R, O'Reilly EM, Flynn PJ, Rowland KM, Atkins JN, Mirtsching BC, Rivkin SE, Khorana AA, Goldman B, Fenoglio-Preiser CM, Abbruzzese JL, Blanke CD. Phase III study comparing gemcitabine plus cetuximab versus gemcitabine in patients with advanced pancreatic adenocarcinoma: Southwest Oncology Group-directed intergroup trial S0205. *J Clin Oncol* 2010; 28: 3605-3610 [PMID: 20606093 DOI: 10.1200/JCO.2009.25.7550]
4 Cascinu S, Berardi R, Labianca R, Siena S, Falcone A, Aitini E, Barni S, Di Costanzo F, Dapretto E, Tonini G, Pierantoni C, Artale S, Rota S, Floriani I, Scartozzi M, Zaniboni A. Cetuximab plus gemcitabine and cisplatin compared with gemcitabine and cisplatin alone in patients with advanced pancreatic cancer: a randomised, multicentre, phase II trial. *Lancet Oncol* 2008; 9: 39-44 [PMID: 18077217 DOI: 10.1016/S1470-2045(07)70383-2]
5 Brunner TB. Neoadjuvant therapy for potentially resectable pancreatic cancer: an emerging paradigm? *Curr Oncol Rep* 2013; 15: 162-169 [PMID: 23325567 DOI: 10.1007/s11912-012-0291-3]
6 夏廷毅, 孙庆选, 于湧, 常东姝, 崔纪青. 体部γ-刀治疗52例胰腺癌的疗效分析. 中华肝胆外科杂志 2006; 12: 86-88
7 常东姝, 夏廷毅, 李平, 孙庆选, 王颖杰, 李宏奇, 范乃斌, 吴伟章. 全身γ-刀治疗局限期胰腺癌临床结果分析. 中华放射肿瘤学杂志 2009; 18: 470-473
8 殷蔚伯, 谷铣之. 肿瘤放射治疗学. 第四版. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2008: 837-854
9 张翼, 石欣. 胰腺癌化疗进展. 世界华人消化杂志 2009; 17: 1422-1426
10 Sun C, Ansari D, Andersson R, Wu DQ. Does gemcitabine-based combination therapy improve the prognosis of unresectable pancreatic cancer? *World J Gastroenterol* 2012; 18: 4944-4958 [PMID: 23002368 DOI: 10.3748/wjg.v18.i35.4944]
11 于金明, 于甬华, 尹勇, 王亚彬, 徐敏, 郭守芳. X射线立体定向放射治疗胰头癌13例分析. 中华放射肿瘤学杂

志 2001; 10: 125
12 孙新东, 于金明, 杨新华, 卢洁, 范晓丽. 体部γ刀治疗不能手术的胰腺癌28例疗效分析. 实用癌症杂志 2001; 16: 413-414
13 Gurka MK, Collins SP, Slack R, Tse G, Charabaty A, Ley L, Berzcel L, Lei S, Suy S, Haddad N, Jha R, Johnson CD, Jackson P, Marshall JL, Pishvaian MJ. Stereotactic body radiation therapy with concurrent full-dose gemcitabine for locally advanced pancreatic cancer: a pilot trial demonstrating safety. *Radiat Oncol* 2013; 8: 44 [PMID: 23452509 DOI: 10.1186/1748-717X-8-44]
14 Rwigema JC, Parikh SD, Heron DE, Howell M, Zeh H, Moser AJ, Bahary N, Quinn A, Burton SA. Stereotactic body radiotherapy in the treatment of advanced adenocarcinoma of the pancreas. *Am J Clin Oncol* 2011; 34: 63-69 [PMID: 20308870 DOI: 10.1097/COC.0b013e3181d270b4]
15 刘智惠, 孙大庆. 全身γ刀治疗中晚期胰腺癌的研究进展. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2800-2805
16 肖振中, 赵瑞芬, 吴铁鹰, 武智刚, 曹婧, 杜辉. 体部γ-刀立体定向放疗治疗晚期胰腺癌127例疗效观察. 解放军医药杂志 2012; 24: 29-31
17 党亚正, 扬洁, 费晋秀, 吴发伟, 雷续虎, 陆婉玲. 超级γ-刀治疗胰腺癌46例临床结果分析. 现代肿瘤医学 2008; 16: 253-255
18 张文仙, 石海, 许建明. 胰腺癌患者临床病例分析与预后156例. 世界华人消化杂志 2011; 19: 3526-3531
19 Del Villano BC, Brennan S, Brock P, Bucher C, Liu V, McClure M, Rake B, Space S, Westrick B, Schoemaker H, Zurawski VR. Radioimmunometric assay for a monoclonal antibody-defined tumor marker, CA 19-9. *Clin Chem* 1983; 29: 549-552 [PMID: 6825270]
20 汪毅, 赵平, 王成锋, 单毅, 赵东兵, 田艳涛, 孙跃民, 车旭, 张建伟. 综合治疗在预后不良胰腺癌中的价值. 中华医学杂志 2009; 89: 2381-2385
21 Berger AC, Meszoely IM, Ross EA, Watson JC, Hoffman JP. Undetectable preoperative levels of serum CA 19-9 correlate with improved survival for patients with resectable pancreatic adenocarcinoma. *Ann Surg Oncol* 2004; 11: 644-649 [PMID: 15197014 DOI: 10.1245/ASO.2004.11.025]
22 Kim JE, Lee KT, Lee JK, Paik SW, Rhee JC, Choi KW. Clinical usefulness of carbohydrate antigen 19-9 as a screening test for pancreatic cancer in an asymptomatic population. *J Gastroenterol Hepatol* 2004; 19: 182-186 [PMID: 14731128 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2004.03219.x]
23 Micke O, Bruns F, Kurowski R, Horst E, deVries AF, Hausler JW, Willich N, Schäfer U. Predictive value of carbohydrate antigen 19-9 in pancreatic cancer treated with radiochemotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2003; 57: 90-97 [PMID: 12909220 DOI: 10.1016/S0360-3016(03)00524-8]
24 丁强, 胡先贵. 影响中晚期胰腺癌预后的多因素分析. 现代中西医结合杂志 2010; 19: 1450-1451
25 张会钦, 陈爱须, 乔钦增, 赵卫林. 中西医结合治疗对晚期胰腺癌的影响. 山西医药杂志 2011; 40: 109-110
26 黄祥忠, 高峰, 沈炜, 任冬青, 韩进. 经皮肝穿胆道引流术及胆道内支架植入术在恶性梗阻性黄疸治疗中的应用. 介入放射学杂志 2009; 18: 930-933
27 王小林, 陈颐, 程洁敏, 颜治平, 龚高全, 张峰, 钱昇. 胆道支架置放治疗恶性梗阻性黄疸的预后因素分析. 复旦学报(医学版) 2002; 29: 476-479
28 Schellenberg D, Goodman KA, Lee F, Chang S, Kuo T, Ford JM, Fisher GA, Quon A, Desser TS, Norton J, Greco R, Yang GP, Koong AC. Gemcitabine chemotherapy and single-fraction stereotactic body radiotherapy for locally advanced pancreatic cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2008; 72: 678-686 [PMID: 18395362 DOI: 10.1016/j.ijrobp.2008.01.051]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2013年5月8日; 21(13): Ⅰ-Ⅴ
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《世界华人消化杂志》投稿须知

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊.

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569)》是一份同行评议和开放获取期刊(Open Access Journal, OAJ), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版. 《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区.

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病学, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章. 最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病学实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平.

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group, BPG)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上. OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊. 论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本. BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑.目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平.

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录. 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号. 《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊.

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

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals). 见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47.

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称. 医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文. 公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录.

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等. 为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上. 中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤). 通常应小写.

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

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量. 如 30 kD改为M_r 30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即A_r(A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体). 计量单位在+、－及-后列出. 在±前后均要列出, 如37.6 ℃±1.2 ℃, 45.6岁±24岁, 56.4 d±0.5 d. 3.56±0.27 pg/ml应为3.56 ng/L±0.27 ng/L. BP用kPa(mmHg), RBC数用1×10^{12}/L, WBC数用1×10^{9}/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. M_r明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm×6 cm×4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO_2结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1×10^{-3} g与5×10^{-7} g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg•d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO_2, 50 mL/L CO_2; 1∶1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45×10^{-6}; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示.

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ^2; (4)样本的

相关系数用英文小写r; (5)自由度用希文小写υ; (6)样本数用英文小写n; (7)概率用英文斜体大写P. 在统计学处理中在文字叙述时平均数±标准差表示为mean±SD, 平均数±标准误为mean±SE. 统计学显著性用$^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套P值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第三套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L±0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6 347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的mean±SD应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g±420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg±0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm±0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48→23.5→24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母≤100, 百分数到个位; 101≤分母≤1 000, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名，按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wcjd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版.

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致.

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号. 格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”.

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码. 例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致.

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象. 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度. 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征. 如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准. 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写*P*, 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值).

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 正文内序号连排用(1), (2), (3). 以下逐条陈述.

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系.

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可.

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论.

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾.

图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …. 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: $^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第3套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$. *P*值后注明何种检验及其具体数字, 如$P<0.01$, $t = 4.56$ *vs* 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用*t*/min, *c*/(mol/L), *p*/kPa, *V*/mL, *t*/℃表达.

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上

角注码号. 如马连生[1]报告……, 潘伯荣等[2-5]认为……; PCR方法敏感性高[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部),书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp

4.2 研究原著写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp

4.3 焦点论坛写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp

4.4 文献综述写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp

4.5 研究快报写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp

4.6 临床经验写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcjy.asp

4.7 病例报告写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx. 无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投稿须知下载网址http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf. 审稿过程平均时间需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审.

6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删节时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有.

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

http: //www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进.

世界华人消化杂志 2013年5月8日; 21(13): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26
美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会
会议地点: 美国旧金山
联系方式: www.gicasym.org

2013-02-10/15
2013年肠道微生物组: 免疫网络效应/法规Keystone Symposia会议
会议地点: 美国
联系方式: info@keystonesymposia.org

2013-02-09/12
美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周(CNW 2013)
会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城
联系方式: http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508

2013-02-22/23
国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会
会议地点: 美国休斯顿
联系方式: http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1]

2013-02-22/23
迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议
会议地点: 美国
联系方式: cme.med.miami.edu/x88.xml

2013-03-01/31
2013年北京第七届疝和腹壁外科国际学术研讨会
会议地点: 北京市
联系方式: zhshfbwkzz@yahoo.com.cn

2013-03-01/04
2013加拿大消化疾病周(CDDW)
会议地点: 加拿大
联系方式: www.cag-acg.org/cddw

2013-03-07/10
亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议
会议地点: 新加坡
联系方式: www.apaslconference.org

2013-03-15/17
2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛
会议地点: 深圳市
联系方式: ewancool@hotmail.com

2013-03-14/16
中部外科学会(CSA)2013年会
会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛
联系方式: http://www.centralsurg.org/meeting/futuremtgs.html

2013-04-12/14
2013中国肛肠创新论坛(CICS)
会议地点: 北京市
联系方式: www.crdinnovation.com

2013-04-19/23
2013第2届国际肿瘤学论坛
会议地点: 瑞士
联系方式: cihexpo@163.com

2013-05-23/25
2013第六届世界癌症大会
会议地点: 西安市
联系方式: bithuiyi@163.com

2013-05-20/22
2013年第三届内分泌与代谢大会
会议地点: 西安市
联系方式: nancy@bitconferences.cn

2013-05-31/06-04
2013美国临床肿瘤协会年会
会议地点: 美国芝加哥
联系方式: yangxinxue999@163.com

2013-06-07/09
中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤营养与支持治疗学术会议
会议地点: 武汉市
联系方式: csonsc@VIP.163.com

2013-06-21/23
中国消化科学术论坛
会议地点: 张家界市
联系方式: casgmail@126.com

2013-07-13/14
中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会
会议地点: 银川市
联系方式: lilyjia@163.com

2014-09-26/30
第39届欧洲临床肿瘤学会年会
会议地点: 西班牙
联系方式: http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html

2013-10-18/20
第二十二届亚太抗癌大会
会议地点: 天津市
联系方式: secretariat@apcc2013.com

世界华人消化杂志 2013年5月8日; 21(13): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

陈国忠 主任医师
广西中医学院第一附属医院消化内科

陈卫昌 教授
苏州大学附属第一医院消化内科

程树群 副教授
中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院综合治疗三科

党双锁 教授
西安交通大学医学院第二附属医院感染科

杜奕奇 副教授
中国人民解放军第二军医大学长海医院

樊晓明 教授
复旦大学附属金山医院消化科

冯志杰 主任医师
河北医科大学第二医院消化内科

高国全 教授
中山大学中山医学院生物化学教研室

高英堂 研究员
天津市第三中心医院

郝丽萍 副教授
华中科技大学同济医学院公共卫生学院营养与食品卫生学系

何向辉 教授
天津医科大学总医院普通外科

江建新 副主任医师
贵阳医学院附属医院肝胆外科

李淑德 教授
中国人民解放军第二军医大学长海医院消化内科

李苏宜 教授
东南大学附属中大医院肿瘤科

李勇 副教授
上海中医药大学附属市中医医院消化科

刘炳亚 研究员
上海交通大学医学院附属瑞金医院, 上海消化外科研究所

刘绍能 主任医师
中国中医科学院广安门医院消化科

陆伦根 教授
上海交通大学附属第一人民医院消化科

吕凌 副教授
江苏省人民医院肝脏外科

门秀丽 教授
河北联合大学(原华北煤炭医学院)病理生理学教研室

彭亮 副主任医师
中山大学附属第三医院感染科

任粉玉 教授
延边大学附属医院消化内科

邵先玉 教授
泰山医学院附属医院消化内科

汤朝晖 副主任医师
上海交大医学院附属新华医院普外科

唐南洪 教授
福建医科大学附属协和医院省肝胆外科研究所

万军 教授
中国人民解放军总医院南楼老年消化科

王阁 教授
中国人民解放军第三军医大学第三附属医院

吴君 主任医师
贵阳医学院附属医院感染科

夏敏 教授
中山大学北校区公共卫生学院

张伟辉 主任医师
哈尔滨医科大学一院微创胆道外科

世界华人消化杂志
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《**世界华人消化杂志**》入编《中文核心期刊要目总览》2011 年版（即第六版）之 **临床医学/特种医学类** 的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了 73 个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN 号、CN 号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被索量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web 下载量等 9 个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到 60 余种，统计到的文献数量共计 221177 余万篇次，涉及期刊 14400 余种。参加核心期刊评审的学科专家达 8200 多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出 1982 种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂

撰安

《中文核心期刊要目总览》2011 年版编委会

代章：

2012 年 1 月



百世登

Baishideng®

Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,
315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com



 © 2013 Baishideng. All rights reserved.

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

世界华人消化杂志

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2013 年 5 月 18 日　第 21 卷　第 14 期　(Volume 21 Number 14)



14/2013

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

ISSN 1009-3079
14>
9 771009 307056

世界华人消化杂志　www.wjgnet.com　二零一三年五月十八日　第二十一卷　第十四期

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

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

总顾问

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

名誉主编

潘伯荣教授

主编

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

编委

消化内科学

白爱平副教授
白岚教授
卜平教授
陈国忠主任医师
陈洪副教授
陈其奎教授
陈卫昌教授
陈贻胜教授
程斌教授
迟宝荣教授
崔立红教授
邓鑫教授
丁士刚教授
董蕾教授
杜雅菊主任医师
杜奕奇副教授
樊冬梅副主任医师
樊晓明教授
房静远教授
冯志杰主任医师
傅春彬主任医师
甘华田教授
高凌副教授
戈之铮教授
关玉盘教授
关晓辉主任医师
郭晓钟教授
郝建宇教授
郝丽萍副教授
何继满教授
何松教授
洪天配教授
黄培林教授
黄晓东主任医师
黄颖秋教授
黄缘教授
季国忠教授
江米足教授
姜春萌教授
姜慧卿教授
姜相君主任医师
金瑞教授
蓝宇教授
李淑德教授
李瑜元教授
李玉民教授
廖家智副主任医师
林志辉教授
刘冰熔教授
刘凤斌教授
刘改芳主任医师
刘海峰主任医师
刘海林主任医师
刘亮明副教授
陆伦根教授
马红主任医师
马欣主任医师
毛恩强教授
毛高平教授
孟庆华教授
缪应雷主任医师
倪润洲教授
欧希龙副教授
潘秀珍教授
潘阳林副教授
朴云峰教授
秦成勇教授
任粉玉教授
任建林教授
邵先玉教授
沈琳主任医师
沈薇教授
施瑞华教授
宋军副教授
唐世刚教授
田宇彬教授
度必光教授
宛新建副教授
王邦茂教授
王炳元教授
王承党教授
王江滨教授
王俊平教授
王蔚虹教授
王晓艳副教授
夏冰教授
夏时海副教授
徐灿霞教授
徐可树教授
杨建民教授
张国主任医师
姚树坤教授
张国梁主任医师
张军教授
张庆瑜教授
张小晋主任医师
张筱茵副教授
张志坚教授
郑培永教授
郑鹏远教授
郑素军副主任医师
郑勇教授
周国雄主任医师
周宇教授
邹晓平主任医师
诸琦教授
于珮主任医师

消化外科学

白雪副主任医师
白雪巍副主任医师
白玉作教授
蔡开琳副教授
蔡三军主任医师
曹杰主任医师
陈炳官教授
陈光教授
陈海龙教授
陈积圣教授
陈进宏副主任医师
陈凛教授
陈汝福教授
陈亚军主任医师
陈钟教授
程爱国教授
程树群副教授
崔云甫教授
戴朝六教授
戴冬秋教授
丁义涛教授
杜顺达副教授
房林教授
傅红副教授
傅华群教授
傅思源副教授
傅晓辉副教授
傅志仁主任医师
高毅主任医师
葛海燕教授
巩鹏副教授
谷俊朝主任医师
顾国利副主任医师
顾岩教授
韩天权教授
郝纯毅主任医师
郝立强副教授
何超教授
何向辉教授
何晓顺教授
何裕隆教授
胡安斌副教授
黄志勇教授
季加孚教授
荚卫东教授
姜波健教授
金山主任医师
康春博副主任医师
孔静副教授
黎乐群教授
李革副教授
李国威教授
李华副教授
李华山主任医师
李升平教授
李胜研究员
李涛副主任医师
李文岗教授
李小荣教授
李旭副教授
李永翔教授
李正荣副教授
李志霞教授
李宗芳教授
梁力建教授
刘宝林教授
刘超教授
刘宏鸣副教授
刘建教授
刘亮副主任医师
刘颖斌主任医师
卢军华教授
陆云飞教授
禄韶英副教授
吕凌副教授
吕云福教授
麻勇副研究员
齐清会教授
秦春宏副主任医师
秦华东教授
秦环龙教授
秦建民主任医师
邱伟华主任医师
仇毓东教授
崔清波副教授
单云峰副主任医师
沈柏用副教授
施宝民教授
施诚仁教授
施晓雷副主任医师
石毓君副研究员
宋新明教授
宋振顺教授
孙诚谊教授
孙文兵教授
孙星副教授
孙学英教授
邰升副教授
谭晓冬教授
汤朝晖副主任医师
汤绍涛教授
唐南洪教授

世界华人消化杂志®

编辑委员会

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

消化感染病学

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

消化中医药学

陈治水主任医师
杜群副研究员
扈晓宇主任医师
黄恒青主任医师
李军祥教授
李康副教授
李晓波教授
李勇副教授
李振华教授
刘成海研究员
刘绍能主任医师
鲁玉辉副教授
南极星教授
牛英才研究员
谭周进教授
王富春教授
王来友副教授
王笑民主任医师
邢建峰副教授
徐列明教授
许玲教授
徐庆教授
袁红霞研究员
张声生教授

消化肿瘤学

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

消化影像学

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

消化内镜及介入治疗学

郝俊鸣副主任医师
李家平教授
刘杰民副主任医师
茅爱武教授
孙明军教授
万军教授
吴沛宏教授
余日胜主任医师
袁友红副教授
张火俊副教授

消化中西医结合学

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

消化基础研究

曹洁副教授
曹鹏副研究员
陈敬贤教授
陈志龙教授
崔莲花副教授
段义农教授
樊红教授
高国全教授
高英堂研究员
管冬元副教授
郭长江研究员
郭俊明教授
何红伟副研究员
何敏教授
黄昆教授
黄文林教授
黄园教授
洪艳教授
李刚教授
李君文研究员
李孟森教授
李文贵副教授
李焱副研究员
李增山副教授
刘长征副教授
刘克辛教授
刘森副教授
宁钧宇副研究员
彭宗根副研究员
任超世研究员
任浩副教授
任晓峰副教授
邵华副主任药师
沈东炎副教授
沈涛副教授
斯坎德尔·白克力教授
台桂香教授
谭学瑞教授
汤静主管药师
滕旭副教授
田文静副教授
汪思应教授
王钦红教授
王书奎教授
魏继福研究员
文彬研究员
吴道澄教授
吴江锋副教授
吴军研究员
吴俊华副教授
吴志强副教授
夏敏教授
徐健副主任医师
徐宁志研究员
许文燮教授
杨晓明教授
阴赪宏研究员
郁卫东副研究员
喻荣彬教授
曾柱教授
张红教授
张淑坤副研究员
赵平教授
赵铁建教授
周南进研究员
周素芳教授
周晓武副主任医师
朱益民教授
竺亚斌研究员

消化病理学

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

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目　次 ●　2013 年 5 月 18 日　第 21 卷　第 14 期　(总第418期)

述　评

1273 高脂血症、高脂饮食与肠道菌群的关系
李超, 崔立红

基础研究

1278 橙皮苷预处理对APAP诱导小鼠急性肝损伤的保护作用及凋亡相关基因的影响
陈秀娟, 王超, 舒克钢, 雷焦, 聂浩, 张燕翔, 龚权

文献综述

1286 微生态制剂治疗肝衰竭内毒素血症的研究进展
袁林艳, 吴亚云, 李宏

1292 辅助治疗与新辅助治疗在胰腺癌治疗中的作用
黄鹏, 钟翔宇, 徐艺, 崔云甫

1297 结直肠癌NCCN、NICE指南及中国卫生部诊疗规范的比较
何振华, 张森

研究快报

1303 RKIP过表达对肝星状细胞在细胞外基质上黏附的抑制
马俊骥, 赵慧, 姜慧卿

1309 p38 MAPK介导的血管紧张素Ⅱ的促肝星状细胞增殖作用
崔巍, 邵臻, 傅宝玉

临床经验

1315 血清和胃液PⅢNP、LN在胃癌辅助诊断中的价值
高源, 洪汝涛

1321 血浆氨基酸比例模型判别慢性乙型肝炎肝组织病理状态的评价
张占卿, 陆伟, 王雁冰, 贾小芳, 张丽军, 丁荣蓉, 周新兰, 冯艳玲

1327 肝脏未分化胚胎性肉瘤4例
贾昌俊, 赵薇, 戴朝六

1333 IKKi在肝硬化相关肝细胞癌中的表达
郭颖, 桑伟, 张巍, 范晓棠, 陈兰, 阎道博, 卢畅, 何方平

1339 乌司他丁与加倍酯治疗急性胰腺炎的疗效比较
白一彤, 郭晓钟, 李宏宇, 邵晓冬, 崔忠敏, 王迪, 赵佳钧

1343 吲哚美辛预防ERCP术后胰腺炎的Meta分析
姜丹, 赖铭裕, 陈家庄, 韦春回

1351 血吸虫肠病误诊分析65例
庞慧芳, 赵秋, 侯伟, 赵慧贞, 李德民, 王渝, 覃华

1355 溃疡性结肠炎合并强直性脊柱炎与溃疡性结肠炎相关骶髂关节炎的临床特点
田雨, 李俊霞, 李懿璇, 王化虹, 刘新光

1360 慢性便秘患者报告临床结局评估量表的性能评价和分值意义判定
金洵, 丁曙晴, 丁义江, 王玲玲, 张华, 王丽雯, 刘妮妮, 王静, 曹建葆

1366 含呋喃唑酮四联一线方案初治幽门螺杆菌的临床观察
陈伟, 张桂英, 曾亚, 李乾, 徐美华, 刘霆

病例报告

1372 发生于胃溃疡基底的增生性息肉1例
杨娟, 杨玉珍, 但自力, 陈念钧, 周琦

附　　录	Ⅰ-Ⅴ　《世界华人消化杂志》投稿须知 Ⅰ　2013年国内国际会议预告
志　　谢	Ⅰ　志谢世界华人消化杂志编委
消　　息	1291　《世界华人消化杂志》出版流程 1308　中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 1314　《世界华人消化杂志》修回稿须知 1332　《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 1350　《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 1354　《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 1359　《世界华人消化杂志》栏目设置 1365　中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 1371　《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 1374　《世界华人消化杂志》参考文献要求
封面故事	《世界华人消化杂志》编委, 崔立红, 教授, 主任医师, 博士生导师, 100048, 北京市海淀区阜成路6号, 中国人民解放军海军总医院消化内科
本期责任人	编务 马帅; 送审编辑 闫晋利, 鲁亚静; 组版编辑 闫晋利; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 黄新珍; 形式规范审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编辑 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平　题写封面刊名
陈可冀　题写版权刊名
(旬刊)

创　刊 1993-01-15
改　刊 1998-01-25
出　版 2013-05-18
原刊名 新消化病学杂志

期刊名称
世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

主编
程英升, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心
党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科
江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科
刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科
刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科
吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科
马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科
王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科
姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心
张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部
田滢, 主任
《世界华人消化杂志》编辑部
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室
电话: 010-59080035
传真: 010-85381893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

出版
百世登出版集团有限公司
Baishideng Publishing Group Co., Limited
Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

制作
北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室
电话: 010-85381892
传真: 010-85381893

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

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

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

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

定价
每期68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归Baishideng所有

World Chinese Journal of Digestology

May 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 14

EDITORIAL

1273 Relationship among intestinal flora, high-fat diets, and hyperlipidemia
Li C, Cui LH

BASIC RESEARCH

1278 Effect of hesperidin pretreatment on the expression of apoptosis-related genes in the liver of mice with acetaminophen-induced acute liver injury
Chen XJ, Wang C, Shu KG, Lei J, Nie H, Zhang YX, Gong Q

REVIEW

1286 Microbial modulators for treatment of liver failure with endotoxemia: Research progress
Yuan LY, Wu YY, Li H

1292 Role of neoadjuvant therapy and adjuvant therapy in treatment of pancreatic cancer
Huang P, Zhong XY, Xu Y, Cui YF

1297 Comparison of NCCN, NICE and Chinese Ministry of Health guidelines for diagnosis and treatment of colorectal cancer
He ZH, Zhang S

RAPID COMMUNICATION

1303 RKIP overexpression inhibits hepatic stellate cell adhesion to extracellular matrix
Ma JJ, Zhao H, Jiang HQ

1309 p38 MAPK-mediated proliferation-promoting effect of angiotensin Ⅱ on hepatic stellate cells
Cui W, Shao Z, Fu BY

CLINICAL PRACTICE

1315 Laminin and procollagen Ⅲ N-terminal peptide in serum and gastric juice as potential tumor markers for gastric cancer
Gao Y, Hong RT

1321 Plasma amino acid ratio models for discrimination of pathological status of liver tissues in patients with chronic hepatitis B
Zhang ZQ, Lu W, Wang YB, Jia XF, Zhang LJ, Ding RR, Zhou XL, Feng YL

1327 Diagnosis and treatment of undifferentiated embryonal sarcoma of the liver: A retrospective study of four cases
Jia CJ, Zhao W, Dai CL

1333 Expression of IKKi in cirrhosis-related hepatocellular carcinoma
Guo Y, Sang W, Zhang W, Fan XT, Chen L, Yan DB, Lu C, He FP

1339 Therapeutic effect of ulinastatin *vs* gabexate mesilate in management of acute pancreatitis
Bai YT, Guo XZ, Li HY, Shao XD, Cui ZM, Wang D, Zhao JJ

1343 Indomethacin for preventing post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis: A meta-analysis
Jiang D, Lai MY, Chen JZ, Wei CH

1351 Misdiagnosis of intestinal schistosomiasis: An analysis of 65 cases
Pang HF, Zhao Q, Hou W, Zhao HZ, Li DM, Wang Y, Qin H

1355 Clinical characteristics of ulcerative colitis with ankylosing spondylitis *vs* sacroiliitis with ulcerative colitis
Tian Y, Li JX, Li YX, Wang HH, Liu XG

1360 Validation and score meaning of the Patient-Reported Outcome of Chronic Constipation rating scale
Jin X, Ding SQ, Ding YJ, Wang LL, Zhang H, Wang LW, Liu NN, Wang J, Cao JB

1366 Furazolidone-based quadruple therapy as first-line treatment for *Helicobacter pylori* infection
Chen W, Zhang GY, Zeng Y, Li Q, Xu MH, Liu T

CASE REPORT

1372 A gastric hyperplastic polyp occurring in the ulcer base: A case report
Yang J, Yang YZ, Dan ZL, Chen NJ, Zhou Q

APPENDIX	I – V Instructions to authors of *World Chinese Journal of Digestology* I Meeting events calendar in 2013
ACKNOWLEDGMENT	I Acknowledgments to reviewers of *World Chinese Journal of Digestology*
COVER	Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Li-Hong Cui, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Naval General Hospital, 6 Fucheng Road, Haidian District, Beijing 100048, China
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: *Shuai Ma* Review Editor: *Jin-Li Yan, Ya-Jing Lu* Electronic Page Editor: *Jin-Li Yan* English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Editor-in-Charge: *Xin-Zhen Huang* Proof Editor: *Ying Tian* Layout Editor: *Lian-Sheng Ma*

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

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date May 18, 2013

NAME OF JOURNAL
World Chinese Journal of Digestology

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

EDITOR-IN-CHIEF
Ying-Sheng Cheng, Professor, Medical Imaging Center, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China
Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China
Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China
Lian-Xin Liu, Professor, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China
Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China
Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hang-zhou 310006, Zhejiang Province, China
Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China
Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China
Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China
Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

EDITORIAL OFFICE
Ying Tian, Director
World Chinese Journal of Digestology
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-59080035
Fax: +86-10-85381893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

PUBLISHER
Baishideng Publishing Group Co., Limited
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,
315-321 Lockhart Road, Wan Chai,
Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188
E-mail: bpg@baishideng.com
http://www.wjgnet.com

PRODUCTION CENTER
Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu,
Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-85381892
Fax: +86-10-85381893

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

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

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

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2013年5月18日; 21(14): 1273-1277
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

述评 EDITORIAL

高脂血症、高脂饮食与肠道菌群的关系

李 超, 崔立红

李超, 崔立红, 中国人民解放军海军总医院消化内科 北京市 100048
崔立红, 教授, 主任医师, 主要从事功能性胃肠疾病、微生态与消化系疾病及内窥镜消化系早癌诊治方面的研究.
作者贡献分布: 本文由李超综述; 崔立红指导审阅.
通讯作者: 崔立红, 教授, 主任医师, 博士生导师, 100048, 北京市海淀区阜成路6号, 中国人民解放军海军总医院消化内科.
luckycui861@sina.com
收稿日期: 2013-03-18 修回日期: 2013-03-30
接受日期: 2013-04-12 在线出版日期: 2013-05-18

Relationship among intestinal flora, high-fat diets, and hyperlipidemia

Chao Li, Li-Hong Cui

Chao Li, Li-Hong Cui, Department of Gastroenterology, Naval General Hospital, Beijing 100048, China
Correspondence to: Li-Hong Cui, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Naval General Hospital, 6 Fucheng Road, Haidian District, Beijing 100048, China. luckycui861@sina.com
Received: 2013-03-18 Revised: 2013-03-30
Accepted: 2013-04-12 Published online: 2013-05-18

Abstract

In recent years, research has found close associations among intestinal flora, high-fat diets, and hyperlipidemia. Intestinal flora may regulate blood lipids by producing cholesterol oxidase, inhibiting the activity of liver lipase, regulating the distribution of cholesterol in the blood and liver, and affecting biliary enterohepatic circulation. High-fat diets and hyperlipidemia can influence the composition of intestinal flora by reducing intestinal nutrient source, changing redox state, and destroying the microenvironment in which intestinal flora survive. Molecular mechanisms by which intestinal flora regulates lipid metabolism include directly regulating fat storage genes of the host (inhibiting the activity of fasting-induced adipose factor gene, enhancing the expression of sterol regulatory element binding protein-1 and carbohydrate response element binding protein, and reducing the activity of AMP-activated protein kinase) and modulating the activity of lipopolysaccharide to change the body's chronic low inflammation state. Prevention of hyperlipidemia by regulating the intestinal flora or prevention and treatment of related diseases by adjusting the diet and reducing blood fat to change the composition of intestinal flora are becoming research hotspots.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: High-fat diets; Intestinal flora; Hyperlipidemia

Li C, Cui LH. Relationship among intestinal flora, high-fat diets, and hyperlipidemia. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(14): 1273-1277 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1273.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i14.1273

摘要

近年来, 研究发现肠道菌群、高脂饮食、高脂血症三者间有着紧密的联系. 肠道菌群可能通过产生胆固醇氧化酶、抑制肝脂肪合成酶的活性、调节胆固醇在血与肝脏中的重分布、影响胆盐的肝肠循环等作用发挥调节血脂作用. 高脂饮食及高脂血症则可因造成肠道内养料来源减少、改变氧化还原状态、破坏菌群赖以生存的微环境来影响肠道菌群的构成. 肠道菌群对脂代谢调节的分子机制主要为直接调节宿主脂肪存储基因(抑制禁食诱导脂肪细胞因子基因的活性、增强固醇应答元件结合蛋白21与碳水化合物应答元件结合蛋白的表达、降低磷酸化腺苷酸活化蛋白激酶的活性)的表达和调节脂多糖的活性以改变机体慢性低水平炎症状态影响脂代谢. 因此, 通过调节肠道菌群来抑制高脂血症的形成, 抑或调节饮食、降低血脂来改变肠道菌群的构成以预防和治疗相关疾病的发生成为研究的热点.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 高脂饮食; 肠道菌群; 高脂血症

核心提示: 肠道菌群能通过产生胆固醇氧化酶、抑制肝脏脂肪合成酶的活性、调节胆固醇在血与肝脏中的重分布、影响胆盐的肝肠循环等作用发挥调节血脂作用. 高脂饮食及高脂血症则可因造

■背景资料
随着生活水平的提高, 高脂血症成为威胁人类健康的重要问题. 同时, 随着对肠道菌群研究的深入, 发现肠道菌群失衡与多种疾病密切相关. 而肠道菌群与高脂血症、高脂饮食之间存在紧密的联系.

■同行评议者
段义农, 教授, 南通大学医学院病原生物学系

■研发前沿
肠道菌群与多种疾病的关系已成为目前国内外研究的热点, 包括肠道菌群与脂代谢关系的研究. 但目前的研究大多停留在动物实验和理论研究阶段, 如何推进临床研究成为亟待解决的问题.

成肠道内养料来源减少、改变氧化还原状态、破坏菌群赖以生存的微环境来影响肠道菌群的构成.

李超, 崔立红. 高脂血症、高脂饮食与肠道菌群的关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(14): 1273-1277 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1273.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i14.1273

0 引言

正常人体肠道中的细菌细胞数达1014个, 总重量可达1-2 kg, 包含超过800种不同的类型, 其细胞总量接近人体自身细胞的10倍, 其编码的基因数量至少是人体自身基因的100倍[1-3], 占人体总微生物量的78%. 肠道菌约400-500种, 主要有拟杆菌属、乳杆菌属、梭菌属、大肠埃希菌属和双歧杆菌属等, 其中绝大多数为厌氧菌[4]. 可分为原籍菌群和外籍菌群, 原籍菌群多为肠道正常菌群. 肠道正常菌群对人体的生理活动有重要作用, 如对宿主的保护作用、免疫作用、抗肿瘤作用、改善肝功能作用、营养作用、参与机体物质代谢、促进营养物质吸收、屏障作用等[5-11]. 高脂血症是发生动脉硬化、心血管等疾病的重要因素. 近年来, 越来越多的研究表明, 肠道正常菌群与血脂之间有千丝万缕的联系, 肠道菌群可能具有调节血脂的作用[12,13]. 微生态学家就发现肠道菌群中的乳酸杆菌、双歧杆菌、肠球菌等与胆固醇代谢有直接关系[14], 同时众多实验和研究均证明胆固醇摄入量与高脂血症关系密切. 这是因为动物性脂肪的摄入会导致肠内胆汁酸的分泌增加, 胆汁酸的分泌增加促使食物胆固醇的吸收, 使相应血液中胆固醇增加. 如高脂喂养大鼠体质量明显高于普通饲料喂养组大鼠, 高脂饮食喂养大鼠血浆甘油三酯和胆固醇水平也明显增高[15]. 可以看出, 高脂饮食是造成高脂血症的一个重要原因. 因此, 弄清楚肠道菌群、高脂饮食、高脂血症之间的关系, 对预防高脂血症, 从而降低动脉硬化、心血管疾病发病率有重要意义. 本文将近年来, 对肠道菌群与高脂血症、高脂饮食之间的相互关系的研究做简单总结.

1 肠道正常菌群对血脂的影响

肠道正常菌群本身的生理代谢活动至关重要, 而且对宿主的能量和物质代谢会产生巨大的影响. 肠道正常菌群可帮助降低血脂含量. 其降低血脂主要有以下3种途径. 其一, 在肠道内, 一部分胆固醇的降解机制是胆固醇在胆固醇氧化酶的作用下生成胆固稀酮, 进而被降解成粪固醇和胆固烷醇, 随粪便排出体外. 在正常情况下, 肠道内的一些正常菌群可产生胆固醇氧化酶, 加速胆固醇的降解, 从而达到参与维持体内胆固醇的正常水平; 其二, 大肠正常菌群在发酵碳水化合物获取自身养料的同时, 他们主要产物短链脂肪酸可通过抑制肝脏脂肪合成酶的活性及调节胆固醇在血与肝脏中的重分布发挥调脂作用, 从而使血清三酰甘油和胆固醇水平显著的降低[16-18]; 其三, 一些肠道正常菌群如双歧杆菌、乳酸杆菌和肠球菌能产生结合胆汁酸水解酶, 此酶可把结合胆汁酸转变成游离胆汁酸, 从而影响胆汁酸的肠肝循环, 促使肝脏利用胆固醇合成胆汁酸增加, 这样使血中的胆固醇更多的被转化, 实现了降低血胆固醇的作用, 而双歧杆菌、乳酸杆菌和肠球菌数量的减少可以削弱血中胆固醇被转化利用的过程, 使血脂升高. 近年来有学者对乳酸菌及其发酵乳制品对血脂的影响进行了研究, 发现乳酸菌包括嗜酸乳杆菌、双歧杆菌、干酪乳杆菌、嗜热链球菌、屎肠球菌、植物乳杆菌等都具有降胆固醇的效果. 他们大都作用于血清甘油三脂、胆固醇、高密度脂蛋白、低密度脂蛋白, 而产生降血脂作用[19-21]. Martínez等[22]报道仓鼠肠道双歧杆菌浓度与高密度脂蛋白呈正相关. Grill等[23]报道, 通过对有菌动物粪便和无菌动物粪便胆固醇的定量分析, 发现有菌动物排泄胆固醇含量高, 而无菌动物应用胆固醇饲料时, 血液中积累的胆固醇含量是食用同样饲料的有菌动物的胆固醇含量的两倍, 这都说明肠道菌群可以干扰胆固醇吸收. 国内学者研究也表明, 调节肠道菌群的微生态调节剂可降低血中总胆固醇与甘油三酯水平, 伴有肠道菌群失调的脂肪肝患者应用降脂药物后, 甘油三酯及总胆固醇降低水平明显低于无肠道菌群失调的患者[24,25], 间接地证明了肠道正常菌群的降血脂作用. 近年来, 也有研究表明[26], 肠道菌群可通过下调NPC1L1(niemann-pick c1-like 1)来影响血脂.

2 高脂饮食、高脂血症对肠道菌群的影响

高脂血症时, 肠道中微生物赖以生存的环境发生了改变, 其理化性质及物质结构的改变影响了双歧杆菌、乳酸杆菌和肠球菌等肠道正常菌群的新陈代谢及生长繁殖, 使其数量明显减少, 肠杆菌数量则相对增多, 从而出现菌群失调. 长

期的高脂饮食可使大肠微生态系统发生长期而持续的改变[27]. 有研究表明, 高脂饮食可使大鼠肠道乳酸和双歧杆菌明显降低[15]. 高脂饮食在易肥胖鼠中造成肠杆菌增多, 而在所有表型鼠中均可造成拟杆菌和梭菌目菌落的增多[28]. Hekmatdoost等[29]发现, 高动物脂肪喂养的小鼠, 粪便中拟杆菌数目增多, 而益生菌数目减少. 一方面认为, 大肠菌群赖以生存的养料主要来自于未被小肠消化吸收的碳水化合物. 当饮食中脂类成分增多时, 使大肠菌群可获得的养料来源减少, 可能是大肠菌群失衡、厌氧菌计数下降的主要原因. 同时, 高脂饮食后脂类代谢过程中的一些副产物如次级胆酸、硫化氢等, 还可损害大肠黏膜, 导致黏膜炎症, 破坏菌群赖以生存的微环境[30,31]. 任婷婷等[32]认为由于小肠菌群能获取小肠中相对充足的营养成分, 同时大部分细菌具有胆盐水解酶, 能水解结合胆盐, 并利用分离下来的甘氨酸、牛磺酸营养菌体, 故受食物结构的影响较小, 高脂饮食对小肠菌群的影响可能弱于大肠菌群; 另一方面认为, 肠道氧化还原状态改变对肠道菌群有显著影响. 正常生理状况下, 机体自由基的产生和清除保持动态平衡, 维持在一个低的水平. 而长期摄入高脂饮食会造成大量羟自由基、超氧阴离子等氧自由基生成, 氧化-抗氧化系统的平衡被打破,造成氧化应激. 高脂饮食小鼠小肠脂质过氧化产物丙二醛和活性氧含量明显升高, 抗氧化能力显著降低, 反映自由基的过氧化反应加速, 预示着机体内自由基的产生和清除的动态平衡被打破. 进而造成损伤肠壁而诱发炎症, 同时肠道微环境中氧化增强也可能导致菌群的变化[33,34]. 有研究表明[35], 高脂饲料可导致小鼠氧化应激, 显著升高血浆、肠道组织自由基水平, 降低总抗氧化能力, 并降低肠道内乳杆菌数量, 增加大肠杆菌数量, 而高脂饮食添加抗氧化剂硫辛酸则能显著降低小鼠血浆和肠道自由基水平及丙二醛含量, 提高肠组织超氧化物歧化酶活性和肠道与血浆总抗氧化能力, 使肠道乳杆菌数量增加, 并与添加量呈显著量效关系. 都说明了肠道的氧化应激对肠道菌群的影响.

3 肠道菌群对脂代谢影响的分子机制研究

近年来, 众多学者将目光投向对肠道菌群与脂代谢分子机制的研究. 发现肠道菌群对脂代谢的作用主要通过以下两种途径. 其一, 直接调节宿主脂肪存储基因的表达活性, 促进宿主脂肪的积累. Bäckhed等[36]在研究中指出肠上皮细胞可以产生一种禁食诱导脂肪细胞因子(Faif), 他是脂蛋白脂肪酶(lipoprteinlipase, LPL)的抑制因子, 而肠道菌群能够调控Faif的表达. 肠道菌群通过抑制*Faif*基因的活性可以引起甘油三脂在脂肪细胞中沉积. Bäckhed等[37]将正常饲养小鼠的微生物丛植入到无菌小鼠体内后, 发现肠道内Faif的产生受到抑制, 血甘油三酯的比例明显增加并贮存在脂肪组织内. 固醇应答元件结合蛋白-1(sterol regulatory element binding protein-1, SREBP-1)与碳水化合物应答元件结合蛋白(car-bohydrate response element binding protein, ChREBP)是介导肝细胞生脂应答的转录因子[38]. 肠道菌群还能通过某些机制增强两者的表达而促进脂肪酸的合成和脂肪贮存. 研究[36]发现常规饲养小鼠比无菌饲养小鼠的ChREBP mRNA和SREBP-1 mRNA显著增加. 还有研究表明[37,39-41], 肠道菌群可降低磷酸化腺苷酸活化蛋白激酶的活性, 减弱脂肪酸氧化和能量消耗, 从而增加脂肪组织合成; 其二, 肠道菌群失调导致慢性低水平炎症状态影响脂代谢. 脂代谢异常、胰岛素抵抗、血脂异常、肥胖被认为是低水平炎症性疾病[42-44]. 肠道菌群失调导致慢性低水平炎症是通过触及脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)的活性. LPS是革兰阴性菌细胞壁成分, 死亡的革兰氏阴性菌LPS与内毒素结合蛋白(lipopolysacchride binding protein, LBP)形成复合物并被免疫细胞表面的CD14/TLR4受体识别时, 会引起多种促炎因子的分泌[45-47]. Cani等[48]将小剂量的LPS持续注入普通饲料食喂养小鼠体内从而建立与高脂饮食所诱导出的水平相同的代谢性内毒素血症模型, 4 wk后试验大鼠出现血脂升高、空腹肥胖等表现. 而大量研究显示[37,49-51], 增加肠道双歧杆菌数量可以有效地降低肠道LPS水平, 而影响机体低水平炎症反应.

4 结论

高脂饮食、高脂血症可以引起肠道菌群失调, 肠道菌群失调又可以加重脂代谢紊乱, 从而造成了恶性循环, 这种恶性循环在高脂血症的发生发展中起着重要的作用. 因此, 如何在临床上通过调节肠道正常菌群来达到降低血脂、治疗高脂血症的目的, 有可能成为将来研究的重点. 同时, 通过限制高脂饮食、治疗高脂血症而预防和治疗由肠道菌群紊乱导致的各种疾病也需要大家投入更多的精力来进行研究.

■创新盘点

本文详尽地阐述了国内外对高脂血症、高脂饮食、肠道菌群相互关系研究的最新进展.

■应用要点
本文全面系统阐述了肠道菌群对血脂调节的机制与高脂饮食及高脂血症对肠道菌群的影响的最新研究进展, 提供了大量有价值的信息, 对肠道微生态、脂代谢基础与临床研究有重要的指导意义.

5 参考文献

1 Zhang H, DiBaise JK, Zuccolo A, Kudrna D, Braidotti M, Yu Y, Parameswaran P, Crowell MD, Wing R, Rittmann BE, Krajmalnik-Brown R. Human gut microbiota in obesity and after gastric bypass. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 2365-2370 [PMID: 19164560 DOI: 10.1073/pnas.0812600106]

2 Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, Gill SR, Nelson KE, Relman DA. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science* 2005; 308: 1635-1638 [PMID: 15831718 DOI: 10.1126/science.1110591]

3 Li M, Wang B, Zhang M, Rantalainen M, Wang S, Zhou H, Zhang Y, Shen J, Pang X, Zhang M, Wei H, Chen Y, Lu H, Zuo J, Su M, Qiu Y, Jia W, Xiao C, Smith LM, Yang S, Holmes E, Tang H, Zhao G, Nicholson JK, Li L, Zhao L. Symbiotic gut microbes modulate human metabolic phenotypes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 2117-2122 [PMID: 18252821 DOI: 10.1073/pnas.0712038105]

4 Xu J, Gordon JI. Honor thy symbionts. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 10452-10459 [PMID: 12923294 DOI: 10.1073/pnas.1734063100]

5 Ewaschuk JB, Diaz H, Meddings L, Diederichs B, Dmytrash A, Backer J, Looijer-van Langen M, Madsen KL. Secreted bioactive factors from Bifidobacterium infantis enhance epithelial cell barrier function. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008; 295: G1025-G1034 [PMID: 18787064 DOI: 10.1152/ajpgi.90227.2008]

6 Flynn S, van Sinderen D, Thornton GM, Holo H, Nes IF, Collins JK. Characterization of the genetic locus responsible for the production of ABP-118, a novel bacteriocin produced by the probiotic bacterium Lactobacillus salivarius subsp. salivarius UCC118. *Microbiology* 2002; 148: 973-984 [PMID: 11932444]

7 Horinaka M, Yoshida T, Kishi A, Akatani K, Yasuda T, Kouhara J, Wakada M, Sakai T. Lactobacillus strains induce TRAIL production and facilitate natural killer activity against cancer cells. *FEBS Lett* 2010; 584: 577-582 [PMID: 19995562 DOI: 10.1016/j.febslet.2009.12.004]

8 Claes IJ, Lebeer S, Shen C, Verhoeven TL, Dilissen E, De Hertogh G, Bullens DM, Ceuppens JL, Van Assche G, Vermeire S, Rutgeerts P, Vanderleyden J, De Keersmaecker SC. Impact of lipoteichoic acid modification on the performance of the probiotic Lactobacillus rhamnosus GG in experimental colitis. *Clin Exp Immunol* 2010; 162: 306-314 [PMID: 20731672 DOI: 10.1111/j.1365-2249.2010.04228.x]

9 DeLegge MH. Enteral feeding. *Curr Opin Gastroenterol* 2008; 24: 184-189 [PMID: 18301269 DOI: 10.1097/MOG.0b013e3282f4dbab]

10 Schultz M, Strauch UG, Linde HJ, Watzl S, Obermeier F, Göttl C, Dunger N, Grunwald N, Schölmerich J, Rath HC. Preventive effects of Escherichia coli strain Nissle 1917 on acute and chronic intestinal inflammation in two different murine models of colitis. *Clin Diagn Lab Immunol* 2004; 11: 372-378 [PMID: 15013990]

11 Bengmark S. Bio-ecological control of chronic liver disease and encephalopathy. *Metab Brain Dis* 2009; 24: 223-236 [PMID: 19104922 DOI: 10.1007/s11011-008-9128-z]

12 Tang ML. Probiotics and prebiotics: immunological and clinical effects in allergic disease. *Nestle Nutr Workshop Ser Pediatr Program* 2009; 64: 219-235; discussion 235-258, 251-257 [PMID: 19710525 DOI: 10.1159/000235793]

13 Denipote FG, Trindade EB, Burini RC. [Probiotics and prebiotics in primary care for colon cancer]. *Arq Gastroenterol* 2010; 47: 93-98 [PMID: 20520982 DOI: 10.1590/S0004-28032010000100016]

14 康白, 袁杰利. 肠道菌群与微生态调节剂. 第1版. 大连: 大连海事大学出版社, 1996: 70-71

15 徐仁应, 万燕萍, 方启宇, 陆薇, 张洪波, 蔡威. 高脂饮食对大鼠肠道益生菌和肝脂肪含量的影响. 营养学报 2011; 33: 367-375

16 Pereira DI, McCartney AL, Gibson GR. An in vitro study of the probiotic potential of a bile-salt-hydrolyzing Lactobacillus fermentum strain, and determination of its cholesterol-lowering properties. *Appl Environ Microbiol* 2003; 69: 4743-4752 [PMID: 12902267 DOI: 10.1128/AEM.69.8.4743-4752.2003]

17 Nakamura Y, Yabe K, Shimada K, Sasaki K, Han KH, Okada T, Sekikawa M, Ohba K, Ito N, Horiuchi K, Kawakami S, Fukushima M. Effect of fermented bean paste on serum lipids in rats fed a cholesterol-free diet. *Biosci Biotechnol Biochem* 2009; 73: 2506-2512 [PMID: 19897890 DOI: 10.1271/bbb.90536]

18 Larkin TA, Astheimer LB, Price WE. Dietary combination of soy with a probiotic or prebiotic food significantly reduces total and LDL cholesterol in mildly hypercholesterolaemic subjects. *Eur J Clin Nutr* 2009; 63: 238-245 [PMID: 17940545 DOI: 10.1038/sj.ejcn.1602910]

19 Mishra V, Prasad DN. Application of in vitro methods for selection of Lactobacillus casei strains as potential probiotics. *Int J Food Microbiol* 2005; 103: 109-115 [PMID: 16040148 DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.10.047]

20 Hlivak P, Odraska J, Ferencik M, Ebringer L, Jahnova E, Mikes Z. One-year application of probiotic strain Enterococcus faecium M-74 decreases serum cholesterol levels. *Bratisl Lek Listy* 2005; 106: 67-72 [PMID: 16026136]

21 Wang Y, Xu N, Xi A, Ahmed Z, Zhang B, Bai X. Effects of Lactobacillus plantarum MA2 isolated from Tibet kefir on lipid metabolism and intestinal microflora of rats fed on high-cholesterol diet. *Appl Microbiol Biotechnol* 2009; 84: 341-347 [PMID: 19444443 DOI: 10.1007/s00253-009-2012-x]

22 Martínez I, Wallace G, Zhang C, Legge R, Benson AK, Carr TP, Moriyama EN, Walter J. Diet-induced metabolic improvements in a hamster model of hypercholesterolemia are strongly linked to alterations of the gut microbiota. *Appl Environ Microbiol* 2009; 75: 4175-4184 [PMID: 19411417 DOI: 10.1128/AEM.00380-09]

23 Grill JP, Cayuela C, Antoine JM, Schneider F. Effects of Lactobacillus amylovorus and Bifidobacterium breve on cholesterol. *Lett Appl Microbiol* 2000; 31: 154-156 [PMID: 10972719 DOI: 10.1046/j.1365-2672.2000.00792.x]

24 王惠艳, 王丽萍, 王德明, 刘英. 肠道有益菌群增效剂对高脂血症大鼠模型的影响. 中国微生态学杂志 1999; 11: 270-271

25 郑军. 肠道菌群失调与脂肪肝患者血脂和丙氨酸氨基转移酶的变化研究. 中国微生态学杂志 2007; 19: 161-162

26 Huang Y, Wang J, Cheng Y, Zheng Y. The hypocholesterolaemic effects of Lactobacillus acidophilus

American type culture collection 4356 in rats are mediated by the down-regulation of Niemann-Pick C1-like 1. *Br J Nutr* 2010; 104: 807-812 [PMID: 20441669 DOI: 10.1017/S0007114510001285]
27 Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature* 2006; 444: 1022-1023 [PMID: 17183309 DOI: 10.1038/4441022a]
28 de La Serre CB, Ellis CL, Lee J, Hartman AL, Rutledge JC, Raybould HE. Propensity to high-fat diet-induced obesity in rats is associated with changes in the gut microbiota and gut inflammation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010; 299: G440-G448 [PMID: 20508158 DOI: 10.1152/ajpgi.00098.2010]
29 Hekmatdoost A, Feizabadi MM, Djazayery A, Mirshafiey A, Eshraghian MR, Yeganeh SM, Sedaghat R, Jacobson K. The effect of dietary oils on cecal microflora in experimental colitis in mice. *Indian J Gastroenterol* 2008; 27: 186-189 [PMID: 19112187]
30 Resta SC. Effects of probiotics and commensals on intestinal epithelial physiology: implications for nutrient handling. *J Physiol* 2009; 587: 4169-4174 [PMID: 19596893 DOI: 10.1113/jphysiol.2009.176370]
31 Attene-Ramos MS, Nava GM, Muellner MG, Wagner ED, Plewa MJ, Gaskins HR. DNA damage and toxicogenomic analyses of hydrogen sulfide in human intestinal epithelial FHs 74 Int cells. *Environ Mol Mutagen* 2010; 51: 304-314 [PMID: 20120018 DOI: 10.1002/em.20546]
32 任婷婷, 卢放根, 张尤历, 程昭明, 徐珉. 高脂饮食对SD大鼠肠道菌群的影响. 世界华人消化杂志 2010; 18: 2694-2697
33 Djuric Z, Uhley VE, Naegeli L, Lababidi S, Macha S, Heilbrun LK. Plasma carotenoids, tocopherols, and antioxidant capacity in a 12-week intervention study to reduce fat and/or energy intakes. *Nutrition* 2003; 19: 244-249 [PMID: 12620527 DOI: 10.1016/S0899-9007(02)01008-0]
34 李武, 施用晖, 杨瑞丽, 岳鹏, 乐国伟. 硫辛酸对高脂饮食小鼠肠道氧化还原状态及消化吸收功能的影响. 中国病理生理杂志 2009; 25: 577-580
35 张蓉, 孙进, 李亚欣, 乔艺, 乐国伟, 施用晖. 硫辛酸对高脂日粮小鼠肠道氧化还原状态与微生物菌群的影响. 营养与保健 2010; 31: 321-369
36 Bäckhed F, Ding H, Wang T, Hooper LV, Koh GY, Nagy A, Semenkovich CF, Gordon JI. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 15718-15723 [PMID: 15505215 DOI: 10.1073/pnas.0407076101]
37 Bäckhed F, Manchester JK, Semenkovich CF, Gordon JI. Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 979-984 [PMID: 17210919 DOI: 10.1073/pnas.0605374104]
38 Dentin R, Pégorier JP, Benhamed F, Foufelle F, Ferré P, Fauveau V, Magnuson MA, Girard J, Postic C. Hepatic glucokinase is required for the synergistic action of ChREBP and SREBP-1c on glycolytic and lipogenic gene expression. *J Biol Chem* 2004; 279: 20314-20326 [PMID: 14985368 DOI: 10.1074/jbc.M312475200]
39 Villena JA, Viollet B, Andreelli F, Kahn A, Vaulont S, Sul HS. Induced adiposity and adipocyte hypertrophy in mice lacking the AMP-activated protein kinase-alpha2 subunit. *Diabetes* 2004; 53: 2242-2249 [PMID: 15331533 DOI: 10.2337/diabetes.53.9.2242]
40 Ruderman NB, Saha AK, Kraegen EW. Minireview: malonyl CoA, AMP-activated protein kinase, and adiposity. *Endocrinology* 2003; 144: 5166-5171 [PMID: 14500570 DOI: 10.1210/en.2003-0849]
41 Kahn BB, Alquier T, Carling D, Hardie DG. AMP-activated protein kinase: ancient energy gauge provides clues to modern understanding of metabolism. *Cell Metab* 2005; 1: 15-25 [PMID: 16054041 DOI: 10.1016/j.cmet.2004.12.003]
42 Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature* 2006; 444: 860-867 [PMID: 17167474 DOI: 10.1038/nature05485]
43 Miele L, Valenza V, La Torre G, Montalto M, Cammarota G, Ricci R, Mascianà R, Forgione A, Gabrieli ML, Perotti G, Vecchio FM, Rapaccini G, Gasbarrini G, Day CP, Grieco A. Increased intestinal permeability and tight junction alterations in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2009; 49: 1877-1887 [PMID: 19291785 DOI: 10.1002/hep.22848]
44 Wellen KE, Hotamisligil GS. Obesity-induced inflammatory changes in adipose tissue. *J Clin Invest* 2003; 112: 1785-1788 [PMID: 14679172]
45 Wright SD, Ramos RA, Tobias PS, Ulevitch RJ, Mathison JC. CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. *Science* 1990; 249: 1431-1433 [PMID: 1698311 DOI: 10.1126/science.1698311]
46 Cani PD, Delzenne NM. The role of the gut microbiota in energy metabolism and metabolic disease. *Curr Pharm Des* 2009; 15: 1546-1558 [PMID: 19442172 DOI: 10.2174/138161209788168164]
47 Lu YC, Yeh WC, Ohashi PS. LPS/TLR4 signal transduction pathway. *Cytokine* 2008; 42: 145-151 [PMID: 18304834 DOI: 10.1016/j.cyto.2008.01.006]
48 Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, Neyrinck AM, Fava F, Tuohy KM, Chabo C, Waget A, Delmée E, Cousin B, Sulpice T, Chamontin B, Ferrières J, Tanti JF, Gibson GR, Casteilla L, Delzenne NM, Alessi MC, Burcelin R. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes* 2007; 56: 1761-1772 [PMID: 17456850 DOI: 10.2337/db06-1491]
49 Cani PD, Hoste S, Guiot Y, Delzenne NM. Dietary non-digestible carbohydrates promote L-cell differentiation in the proximal colon of rats. *Br J Nutr* 2007; 98: 32-37 [PMID: 17367575 DOI: 10.1017/S0007114507691648]
50 Wang Z, Xiao G, Yao Y, Guo S, Lu K, Sheng Z. The role of bifidobacteria in gut barrier function after thermal injury in rats. *J Trauma* 2006; 61: 650-657 [PMID: 16967002 DOI: 10.1097/01.ta.0000196574.70614.27]
51 Cani PD, Neyrinck AM, Fava F, Knauf C, Burcelin RG, Tuohy KM, Gibson GR, Delzenne NM. Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. *Diabetologia* 2007; 50: 2374-2383 [PMID: 17823788 DOI: 10.1007/s00125-007-0791-0]

■同行评价
本文逻辑性强, 从多个侧面来阐述高脂血症、高脂饮食、肠道菌群三者的关系, 对基础和临床工作有一定的指导意义.

编辑 田滢 电编 闫晋利

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2013年5月18日; 21(14): 1278-1285
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

橙皮苷预处理对APAP诱导小鼠急性肝损伤的保护作用及凋亡相关基因的影响

陈秀娟, 王 超, 舒克钢, 雷 焦, 聂 浩, 张燕翔, 龚 权

■背景资料
橙皮苷(hesperidin, HDN)具有抗氧化、抗炎症、维持血管正常渗透压、增强毛细血管韧性、降血脂、保护心血管和抗肿瘤等多种功效. 随着对其药效学研究的深入, HDN已成为天然保健食品和药物学研究的热点.

陈秀娟, 舒克钢, 雷焦, 长江大学医学院 湖北省荆州市 434023
王超, 聂浩, 张燕翔, 龚权, 长江大学医学院病原生物学部 湖北省荆州市 434023
陈秀娟, 主要从事感染与免疫的研究.
长江大学第四批“大学生创新性实验计划”国家级基金资助项目, No. 111048919
湖北省卫生厅青年人才基金资助项目, No. QJX2010-29
作者贡献分布: 此课题由王超、舒克钢、龚权及陈秀娟共同设计; 研究操作由舒克钢、陈秀娟、雷焦及张燕翔共同完成; 研究所用新试剂由聂浩与龚权提供; 数据分析由陈秀娟完成; 本论文写作由陈秀娟完成.
通讯作者: 王超, 讲师, 434023, 湖北省荆州市南环路1号, 长江大学医学院病原生物学部. celful60@yahoo.com.cn
电话: 0716-8062693
收稿日期: 2013-03-16 修回日期: 2013-04-08
接受日期: 2013-04-12 在线出版日期: 2013-05-18

Effect of hesperidin pretreatment on the expression of apoptosis-related genes in the liver of mice with acetaminophen-induced acute liver injury

Xiu-Juan Chen, Chao Wang, Ke-Gang Shu, Jiao Lei, Hao Nie, Yan-Xiang Zhang, Quan Gong

Xiu-Juan Chen, Ke-Gang Shu, Jiao Lei, School of Medicine, Yangtze University, Jingzhou 434023, Hubei Province, China
Chao Wang, Hao Nie, Yan-Xiang Zhang, Quan Gong, Department of Pathogen Biology, School of Medicine, Yangtze University, Jingzhou 434023, Hubei Province, China
Supported by: the College Student Innovation Experiment Program of Yangtze University, No. 111048919; the Young Talent Foundation of Health Department of Hubei Province, No. QJX2010-29
Correspondence to: Chao Wang, Lecturer, Department of Pathogeny Biology, School of Medical, Yangtze University, 1 Nanhuan Road, Jingzhou 434023, Hubei Province, China. celful60@yahoo.com.cn
Received: 2013-03-16 Revised: 2013-04-08
Accepted: 2013-04-12 Published online: 2013-05-18

Abstract

AIM: To investigate the protective effect of hesperidin (HDN) pretreatment on the expression of apoptosis-related genes in the liver of mice with acetaminophen (APAP)-induced acute liver injury.

METHODS: Sixty male Balb/c mice were randomly divided into six groups, including normal group, model group, bifendate group, low-, medium-, and high-dose HDN groups. The HDN groups were intragastrically given different doses of hesperidin for seven days. The bifendate group was given bifendate. Acute liver injury was induced by injecting APAP in all mice except those in the normal group. After 16 h, all mice were sacrificed. Liver index was calculated. Serum levels of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) were measured. The activity of superoxide dismutase (SOD) and the contents of glutathione peroxidase (GSH-PX) and malondialdehyde (MDA) in liver homogenates were determined. Pathological changes in hepatic tissue were observed under an optical microscope. Apoptosis of hepatic cells was detected by TUNEL assay. The expression of Bcl-2 and Bax mRNAs in hepatic tissue was measured by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR).

RESULTS: Compared to the normal group, liver index, serum levels of ALT and AST, and the contents of MDA were significantly increased, and the activity of SOD and contents of GSH-PX in liver homogenates were significantly decreased in the model group (5.41% ± 0.68% *vs* 4.38% ± 0.17%, 1456.49 U/L ± 413.45 U/L *vs* 45.36 U/L ± 11.98 U/L, 1929.34 U/L ± 810.19 U/L *vs* 78.49 U/L ± 10.22 U/L, 32.04 nmol/mgprot ± 9.32 nmol/mgprot *vs* 11.83 nmol/mgprot ± 1.72 nmol/mgprot, 119.29 U/mgprot ± 33.02 U/mgprot *vs* 327.22 U/mgprot ± 26.66 U/mgprot, 75.89 μmol/L ± 20.21 μmol/L *vs* 122.73 μmol/L ± 6.70 μmol/L, all $P < 0.01$). However, liver index, serum levels of ALT and AST, and the contents of MDA were significantly lower, and the activity of SOD and contents of GSH-PX were significantly higher in the bifendate group, high- and medium-dose HDN groups than in the model group (4.65% ± 0.61%, 4.59% ± 0.57%, 4.73% ± 0.63% *vs* 4.38% ± 0.17%; 66.36 U/L ± 13.43 U/L, 225.29 U/L ± 53.02 U/L, 773.06 U/L ± 251.27 U/L *vs* 1456.49 U/L ± 413.45 U/L; 105.75 U/L

■同行评议者
张进祥, 副教授, 华中科技大学同济医学院附属协和医院

± 17.02 U/L, 540.92 U/L ± 170.57 U/L, 906.78 U/L ± 226.38 U/L *vs* 1929.34 U/L ± 810.1 U/L; 15.74 nmol/mgprot ± 2.98 nmol/mgprot, 16.04 nmol/mgprot ± 4.92 nmol/mgprot, 20.85 nmol/mgprot ± 6.04 nmol/mgprot *vs* 32.04 nmol/mgprot ± 9.32 nmol/mgprot; 222.52 U/mgprot ± 56.11 U/mgprot, 245.95 U/mgprot ± 41.90 U/mgprot, 198.12 U/mgprot ± 68.09 U/mgprot *vs* 119.29 U/mgprot ± 33.02 U/mgprot; 108.70 μmol/L ± 25.96 μmol/L, 107.39 μmol/L ± 32.60 μmol/L, 98.90 μmol/L ± 10.71 μmol/L *vs* 75.89 μmol/L ± 20.21 μmol/L, all $P < 0.01$ or 0.05). The spleen index showed no significant differences among each group (all $P > 0.05$). Massive patchy necrosis surrounding the central vein, cellular swelling, massive inflammatory cell infiltration, and significant liver cell apoptosis were observed in liver tissues of mice in the model group; however, these pathological changes and cell apoptosis were significantly alleviated in the bifendate group and HDN groups. Such improvement was most obvious in the bifendate group and high-dose HDN group. APAP could significantly up-regulate Bax mRNA expression, down-regulate Bcl-2 mRNA expression, and decrease the Bcl-2/Bax ratio (0.68 ± 0.03 *vs* 0.28 ± 0.02, 0.21 ± 0.04 *vs* 0.58 ± 0.01; both $P < 0.01$). However, Bcl-2 mRNA expression was significantly up-regulated, Bax mRNA expression was significantly down-regulated and the Bcl-2/Bax ratio was significantly increased in the bifendate group, high- and medium-dose HDN groups (0.22 ± 0.04, 0.56 ± 0.01, 0.75 ± 0.01 *vs* 0.21 ± 0.04; 0.67 ± 0.06, 0.26 ± 0.005, 0.28 ± 0.02 *vs* 0.68 ± 0.03, all $P < 0.05$).

CONCLUSION: HDN pretreatment protects mice from acetaminophen-induced liver injury possibly via mechanisms associated with inhibiting lipid peroxidation and regulating the expressions of apoptosis-related genes.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Hesperidin; Acetaminophen; Liver injury; Oxidative stress; Apoptosis-related genes

Chen XJ, Wang C, Shu KG, Lei J, Nie H, Zhang YX, Gong Q. Effect of hesperidin pretreatment on the expression of apoptosis-related genes in the liver of mice with acetaminophen-induced acute liver injury. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(14): 1278-1285 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1278.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i14.1278

摘要

目的: 探讨橙皮苷(hesperidin, HDN)预处理对扑热息痛(acetaminophen, APAP)导小鼠急性肝损伤的保护作用及凋亡相关基因的影响.

方法: ♂Balb/c小鼠60只, 随机均分为正常组、模型组、联苯双酯组、HDN高、中、低剂量组. 分别给予相应干预10 d后腹腔注射APAP造模, 16 h后处死小鼠, 测定肝、脾指数, 血清谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)及肝匀浆超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-PX)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)水平, 光镜观察肝组织病理学变化和TUNEL法检测肝脏细胞凋亡情况, RT-PCR法测肝组织Bcl-2 mRNA、Bax mRNA转录水平.

结果: 与正常组比较, 模型组小鼠肝指数、ALT、AST、MDA均显著升高, SOD、GSH-PX均明显降低(5.41%±0.68% *vs* 4.38%±0.17%, 1456.49 U/L±413.45 U/L *vs* 45.36 U/L±11.98 U/L, 1929.34 U/L±810.19 U/L *vs* 78.49 U/L±10.22 U/L, 32.04 nmol/mgprot ±9.32 nmol/mgprot *vs* 11.83 nmol/mgprot ±1.72 nmol/mgprot, 119.29 U/mgprot±33.02 U/mgprot *vs* 327.22 U/mgprot±26.66 U/mgprot, 75.89 μmol/L±20.21 μmol/L *vs* 122.73 μmol/L±6.70 μmol/L, 均$P<0.01$). 与模型组相比, 联苯双酯组和HDN高、中剂量组小鼠肝指数、ALT、AST、MDA均显著降低, SOD、GSH-PX均明显升高(4.65%±0.61%, 4.59%±0.57%, 4.73%±0.63% *vs* 4.38%±0.17%; 66.36 U/L±13.43 U/L, 225.29 U/L±53.02 U/L, 773.06 U/L±251.27 U/L *vs* 1456.49 U/L±413.45 U/L; 105.75 U/L±17.02 U/L, 540.92 U/L±170.57 U/L, 906.78 U/L±226.38 U/L *vs* 1929.34 U/L±810.19 U/L; 15.74 nmol/mgprot±2.98 nmol/mgprot, 16.04 nmol/mgprot±4.92 nmol/mgprot, 20.85 nmol/mgprot ±6.04 nmol/mgprot *vs* 32.04 nmol/mgprot±9.32 nmol/mgprot; 222.52 U/mgprot±56.11 U/mgprot, 245.95 U/mgprot±41.90 U/mgprot, 198.12 U/mgprot±68.09 U/mgprot *vs* 119.29 U/mgprot±33.02 U/mgprot; 108.70 μmol/L±25.96 μmol/L, 107.39 μmol/L±32.60 μmol/L, 98.90 μmol/L±10.71 μmol/L *vs* 75.89 μmol/L ±20.21 μmol/L, $P<0.01$或0.05). 各实验组脾指数无明显变化, 差异不具有统计学意义($P>0.05$). 肝脏病理学切片显示模型组肝组织明显围绕中央静脉的大片坏死, 并伴有细胞肿胀变性和大量炎性细胞浸润, 细胞凋亡程度明显加重; 联苯双酯组和HDN各剂量组肝组织

■研发前沿

随着对HDN生理活性功能、营养学价值的逐步认识, 当前及今后急需开发新型有效的工艺来提取和纯化HDN, 进一步阐明HDN在生物体内代谢过程中含量变化、代谢途径、生物活性及利用效率的研究很有必要, 其有效浓度、给药途径、作用机制、稳定性及安全性、与其他物质的配伍性关系等也需要进行深入的研究.

■相关报道
Park等HDN下调pro-Caspase-3蛋白的表达，上调凋亡因子半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶3(Caspase-3)的活性，通过激活Caspase-3的酶活性而诱导人结肠癌细胞的凋亡.

片状坏死明显减轻，炎性细胞浸润程度明显减轻，凋亡程度减轻，以联苯双酯和HDN高剂量组效果最为显著，接近正常肝组织. RT-PCR结果显示，APAP可以上调Bax mRNA转录水平，下调Bcl-2 mRNA转录水平，Bcl-2/Bax比值降低(0.68±0.03 *vs* 0.28±0.02, 0.21±0.04 *vs* 0.58±0.01, *P*<0.01)；联苯双酯和HDN高、中剂量组Bcl-2 mRNA转录水平均显著升高，Bax mRNA转录水平明显降低，Bcl-2/Bax比值升高(0.22±0.04, 0.56±0.01, 0.75±0.01 *vs* 0.21±0.04; 0.67±0.06, 0.26±0.005, 0.28±0.02 *vs* 0.68±0.03, *P*<0.05).

结论: HDN预处理对APAP诱导小鼠急性肝损伤具有保护作用，其机制可能与其抑制肝细胞脂质过氧化反应及调控凋亡相关基因的表达有关.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 橙皮苷; 扑热息痛; 肝损伤; 氧化应激; 凋亡相关基因

核心提示: 橙皮苷(hesperidin)预处理对扑热息痛(acetaminophen)诱导小鼠急性肝损伤具有保护作用，其机制可能与其抑制肝细胞脂质过氧化反应及调控凋亡相关基因的表达有关.

陈秀娟, 王超, 舒克钢, 雷焦, 聂浩, 张燕翔, 龚权. 橙皮苷预处理对APAP诱导小鼠急性肝损伤的保护作用及凋亡相关基因的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(14): 1278-1285 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1278.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i14.1278

0 引言

橙皮苷(hesperidin, HDN)为橙皮素与芸香糖形成的二氢黄酮苷类化合物，大量研究证实HDN存在于多种植物中，在柑桔类植物的果皮中含量尤其丰富[1,2]. 既往研究表明，HDN具有抗炎、抗氧化、抗过敏和消除自由基[3-5]、调节心血管系统的功能[6,7]、抗肿瘤[8-10]、抗辐射损伤[11-13]、对神经系统的保护[14,15]、基因毒性[16]及提高其他药物生物利用度[17,18]等多方面生物活性. Kaur等[19]研究发现，HDN可能通过抗氧化效应和抑制一氧化氮(nitrogen monoxide, NO)的性质而有效地保护脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的大鼠肝细胞损伤、氧化应激和组织学的变化. 在CCl_4诱导的大鼠肝损伤中，HDN也能改善增加的脂质过氧化反应，减弱氧化应激. 这些保护作用与HDN的抗氧化剂特性直接相关[20]. 扑热息痛(acetaminophen, APAP)是临床上应用最广泛的解热镇痛药物，过量使用或蓄积时可以造成严重的肝损害[21]. 本文通过建立APAP诱导的小鼠急性肝损伤模型，探讨HDN预处理对急性肝损伤的保护作用及机制.

1 材料和方法

1.1 材料 60只SPF级♂Balb/c小鼠，体质量22 g±2 g，购自武汉大学动物实验中心；HDN、APAP均购自Sigma公司；羧甲基纤维素钠(Sodium salt of caboxymethylcellulose, CMC-Na)购自天津市科密欧化学试剂有限公司；肝匀浆超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-PX)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、考马斯亮兰蛋白测定试剂盒均购自南京建成生物工程研究所；TRIzol试剂购自Invitrogen公司；总RNA提取试剂盒购自天根生化科技(北京)有限公司；RT-PCR试剂盒购自宝生物工程(大连)有限公司；PCR引物由上海生工生物工程技术服务公司合成.

1.2 方法

1.2.1 造模及分组: 60只♂Balb/c小鼠随机均分为6组: 正常组、模型组、联苯双酯组、HDN高剂量组、中剂量组和低剂量组. HDN高(500 mg/kg)、中(250 mg/kg)、低(125 mg/kg)剂量组将HDN混悬于0.5%CMC-Na溶液中按0.1 mL/10 g灌胃，联苯双酯组(100 mg/kg)给予等量联苯双酯溶液，正常组和模型组给予等量的0.5%CMC-Na溶液，各组1次/d，连续10 d. 末次灌胃后2 h禁食不禁水，除正常组外其余各组腹腔注射150 mg/kg APAP溶液造模，正常组腹腔注射同体积的0.5%CMC-Na溶液. 16 h后称质量，留取血液标本，肝脏、脾脏称质量后计算脏器指数，脏器指数 = 脏器质量(g)/体质量(g). 肝脏部分-80 ℃冻存，后期检测相关指标；部分10%中性甲醛固定，病理形态学观察.

1.2.2 生化指标检测: 取血后静置30 min，4 ℃离心3000 r/min×15 min，取上清液，运用自动生化分析仪检测谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST). 取一定量的肝组织，加9倍重量冷生理盐水制成10%肝匀浆，所有操作均在冰浴中进行. 4 ℃离心3000 r/min×15 min，取上清液严格按照按试剂盒说明用黄嘌呤氧化酶法检测肝匀浆中SOD活力、化学比色法测GSH-PX活力、TBA法检测MDA含量.

1.2.3 肝脏组织病理形态学改变: 取小鼠肝右叶组织用10%中性甲醛固定后常规石蜡包埋切片, 苏木精-伊红(HE)染色, 光镜下观察肝脏组织形态学改变.

1.2.4 TUNEL染色: 小鼠肝组织石蜡切片, 用细胞凋亡检测试剂盒, 严格按说明书操作, 3,3'-二氨基联苯胺显色, 光镜下观察肝脏细胞凋亡变化.

1.2.5 Bcl-2 mRNA、Bax mRNA的测定: 用总RNA提取试剂盒(北京天根生化科技有限公司)提取总RNA后, 用紫外分光光度计测定总RNA浓度和纯度. RT-PCR半定量法测定Bcl-2 mRNA、Bax mRNA, 以β-actin作为内参照. Bcl-2引物序列: 上游5'-GGCATCTTCTCCTTC-CAG-3', 下游5'-CTACCCAGCCTCCGT-TAT-3'; Bax引物序列: 上游5'-TTTCATC-CAGGATCGAGCAGG-3', 下游5'-GCAAAG-TAGAAGAGGGCAACCAC-3'; β-actin引物序列: 上游5'-CTGTCCCTGTATGCCTCTG-3', 下游5'-CATCGTACTCCTGCTTGCT-3'. Bcl-2和Bax反应条件为94 ℃预变性5 min, 94 ℃变性45 s, 50 ℃(Bcl-2)、48 ℃(Bax)退火45 s, 72 ℃延伸45 s, 共35个循环, 再72 ℃延伸5 min, 10 ℃保存. 取RT-PCR产物在2%琼脂糖凝胶电泳, 用BIO-Rad凝胶成像系统分析电泳带面积和光密度值, *Bax*、*Bcl-2*与内参照基因*β-actin*的比值, 代表组织*Bax*、*Bcl-2*相对表达量.

统计学处理 采用SPSS13.0软件进行数据分析, 各项检测结果以mean±SD表示, 组间比较采用*t*检验, 半定量资料采用Ridit分析. $P<0.05$具有统计学意义.

2 结果

2.1 HDN对小鼠肝、脾指数的影响 与正常组相比, 模型组肝指数显著增加($P<0.01$); 与模型组相比, 联苯双酯组和HDN高、中剂量组肝指数均明显降低, 差异具有统计学意义($P<0.05$); 低剂量组肝指数无明显变化($P>0.05$). 各实验组脾指数均无明显变化, 差异不具有统计学意义($P>0.05$)(表1).

2.2 HDN对小鼠血清ALT、AST的影响 与正常组相比, 模型组ALT、AST水平有显著的升高($P<0.01$); 与模型组相比, 联苯双酯组和HDN高、中、低剂量组ALT、AST水平明显降低($P<0.01$), 其中HDN高剂量组ALT、AST水平明显优于低剂量组, 差异具有统计学意义($P<0.01$)(表2).

表 1 HDN对小鼠肝、脾指数的影响 (n = 10, mean ± SD)

分组	肝指数(%)	脾指数(‰)
正常组	4.38 ± 0.17	3.43 ± 0.41
模型组	5.41 ± 0.68[b]	3.87 ± 0.54
联苯双酯组	4.65 ± 0.61[c]	3.49 ± 0.56
HDN高剂量组	4.59 ± 0.57[d]	3.61 ± 0.60
HDN中剂量组	4.73 ± 0.63[c]	3.74 ± 0.68
HDN低剂量组	5.18 ± 0.82	3.85 ± 0.72

[b]$P<0.01$ *vs* 正常组; [c]$P<0.05$, [d]$P<0.01$ *vs* 模型组. HDN: 橙皮苷.

表 2 HDN对小鼠血清谷丙转氨酶、谷草转氨酶的影响 (n = 10, mean ± SD, U/L)

分组	谷丙转氨酶	谷草转氨酶
正常组	45.36 ± 11.98	78.49 ± 10.22
模型组	1456.49 ± 413.45[b]	1929.34 ± 810.19[b]
联苯双酯组	66.36 ± 13.43[d]	105.75 ± 17.02[d]
HDN高剂量组	225.29 ± 53.02[dfh]	540.92 ± 170.57[dfh]
HDN中剂量组	773.06 ± 251.27[df]	906.78 ± 226.38[df]
HDN低剂量组	924.04 ± 227.08[df]	1450.74 ± 463.80[df]

[b]$P<0.01$ *vs* 正常组; [d]$P<0.01$ *vs* 模型组; [f]$P<0.01$ *vs* 联苯双酯组; [h]$P<0.01$ *vs* HDN低剂量组. HDN: 橙皮苷.

2.3 肝组织病理形态学观察 光镜下正常组小鼠肝组织结构清晰, 肝小叶完整, 肝细胞索围绕中央静脉呈放射状排列, 肝细胞无变性坏死, 不伴炎性细胞浸润. 模型组肝组织病理损伤严重, 可见明显围绕中央静脉的大片状坏死, 并伴有肝细胞肿胀变性及大量炎性细胞浸润; HDN高、中剂量组和联苯双酯组肝细胞片状坏死均显著减轻, 炎性细胞浸润程度明显减轻, 尤以高剂量组和联苯双酯组保护效果最好, 接近正常组肝组织. 低剂量组肝细胞部分片状坏死, 汇管区伴有大量的炎性细胞浸润, 程度较模型组略有减轻(图1).

2.4 HDN对小鼠肝匀浆SOD、GSH-PX、MDA水平的影响 SOD、GSH-PX、MDA与正常组比较, 模型组肝组织中SOD、GSH-PX活力显著降低($P<0.05$), MDA含量显著升高($P<0.01$). 与模型组比较, HDN高、中、低剂量组和联苯双酯组肝组织SOD、GSH-PX活力明显升高($P<0.05$), MDA含量明显降低($P<0.05$), 尤以高剂量组变化最为显著($P<0.01$)(表3).

2.5 TUNEL检测 正常肝细胞核呈蓝色, 而凋亡肝细胞核呈棕黄色或棕褐色. 相比于正常组, 模型组小鼠肝组织凋亡肝细胞核明显增多; 相比于

■创新盘点
本文采用HDN灌胃预处理, 模拟目前HDN的主要摄取方法和代谢途径, HDN预防急性肝损伤的保护作用, 体现其预防保健的作用, 具有现实意义.

■应用要点
HDN主要存在柑橘属果实的皮、果肉、种子中, 皮和种子均为废弃的副产物. 柑橘除部分品种用于鲜食及加工外, 许多品种及副产物未得到综合利用, 每年都有极大的浪费. 2007年我国柑橘种植面积达181.46万m^2, 产量突破1800万吨, 达到历史新高. 因此, 从柑橘中提取具有功能性的HDN将具有重大的经济效益和社会效益.

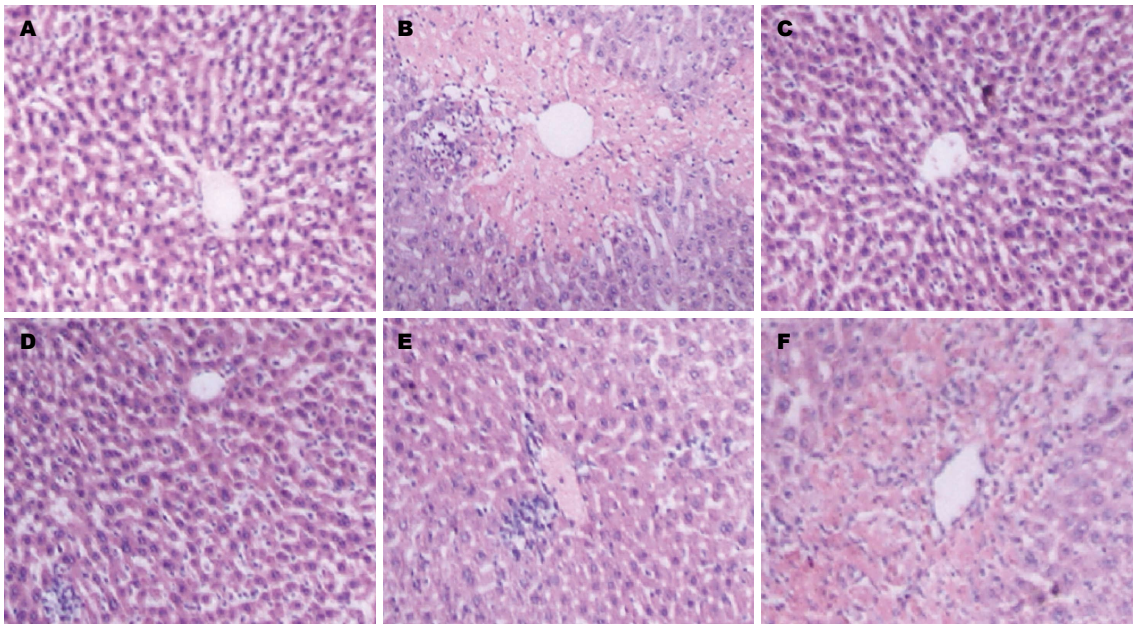


图 1 各组小鼠肝脏HE染色(×100). A: 正常组; B: 模型组; C: 联苯双酯组; D: HDN高剂量组; E: HDN中剂量组; F: HDN低剂量组. HDN: 橙皮苷.

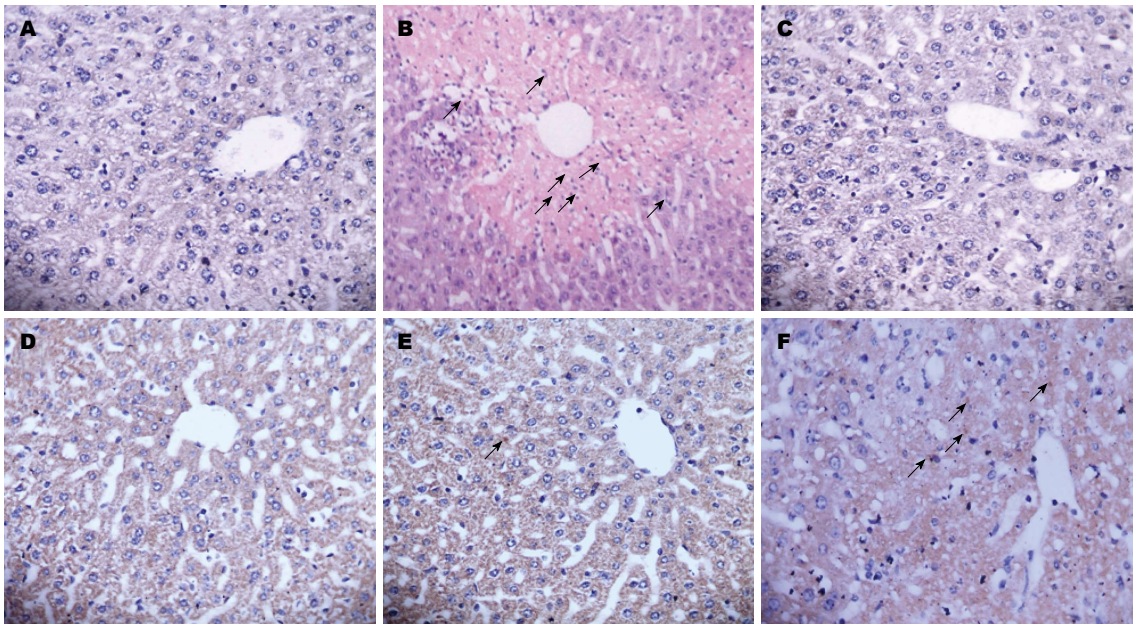


图 2 HDN对小鼠肝细胞凋亡的影响(TUNEL×400). A: 正常组; B: 模型组; C: 联苯双酯组; D: HDN高剂量组; E: HDN中剂量组; F: HDN低剂量组. HDN: 橙皮苷.

模型组, 联苯双酯组和HDN各剂量组凋亡肝细胞核显著减少, 以联苯双酯组和HDN高、中剂量组效果最为显著(图2). 根据同一视野中观察到的凋亡小体数目的多少, 共分为4级, 拟定标准如下: “-”: 肝细胞中无凋亡小体者; “+”: 在肝细胞同一个视野中观察到1个凋亡小体者; “++”: 在肝细胞同一个视野中观察到2-4个凋亡小体者; “+++”: 在肝细胞同一个视野中观察到5个以上(含5个)凋亡小体者(表4).

由图2和表4可知, 正常组小鼠肝细胞凋亡程度轻微, 模型组小鼠肝细胞凋亡程度严重, 经Ridit分析, 与正常组比较差异有显著性意义($P<0.01$); 联苯双酯组和HDN各剂量组小鼠肝细胞凋亡程度均有所减轻, 其中尤以联苯双酯组和HDN高剂量组效果最为明显, 经Ridit分析, 与模型组比较差异有显著性意义($P<0.01$), 相比于HDN低剂量组, HDN高、中剂量组肝细胞凋亡程度明显减轻($P<0.01$)(图2).

表 3 HDN对小鼠肝匀浆超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶、丙二醛水平的影响 (n = 10, mean ± SD)

分组	超氧化物歧化酶 (U/mgprot)	谷胱甘肽过氧化物酶 (μmol/L)	丙二醛 (nmol/mgprot)
正常组	327.22 ± 26.66	122.73 ± 6.70	11.83 ± 1.72
模型组	119.29 ± 33.02[b]	75.89 ± 20.21[b]	32.04 ± 9.32[b]
联苯双酯组	222.52 ± 56.11[d]	108.70 ± 25.96[d]	15.74 ± 2.98[d]
HDN高剂量组	245.95 ± 41.90[dh]	107.39 ± 32.60[c]	16.04 ± 4.92[dh]
HDN中剂量组	198.12 ± 68.09[d]	98.90 ± 10.71[dg]	20.85 ± 6.04[deg]
HDN低剂量组	173.33 ± 57.30[c]	86.26 ± 9.43[e]	26.21 ± 4.61[f]

[b]P<0.01 *vs* 正常组; [c]P<0.05, [d]P<0.01 *vs* 模型组; [e]P<0.05, [f]P<0.01 *vs* 联苯双酯组; [g]P<0.05, [h]P<0.01 *vs* HDN低剂量组. HDN: 橙皮苷.

表 4 HDN对小鼠肝细胞凋亡的影响 (n = 10, mean ± SD)

分组	–	+	++	+++	R值
正常组	9	1	0	0	0.28
模型组	0	0	2	8	0.90[b]
联苯双酯组	10	0	0	0	0.24[d]
HDN高剂量组	7	2	1	0	0.37[dfh]
HDN中剂量组	2	6	2	0	0.56[dfh]
HDN低剂量组	1	4	5	0	0.65[d]
总计	29	13	10	8	0.50

[b]P<0.01 *vs* 正常组; [d]P<0.01 *vs* 模型组; [f]P<0.01 *vs* 联苯双酯组; [h]P<0.01 *vs* HDN低剂量组. HDN: 橙皮苷.

2.6 RT-PCR检测肝组织Bcl-2 mRNA、Bax mRNA转录水平变化 与正常组相比, 模型组Bcl-2 mRNA转录明显降低, Bax mRNA则明显升高(均P<0.01), Bcl-2/Bax比值降低; 与模型组相比较, 联苯双酯组和HDN高、中剂量组Bcl-2 mRNA转录水平均显著升高而Bax mRNA转录水平明显降低(P<0.01或0.05), 以联苯双酯组和HDN高剂量组变化最为显著, Bcl-2/Bax比值升高(P<0.01), HDN低剂量组Bcl-2 mRNA和Bax mRNA均无明显变化(P>0.05)(图3).

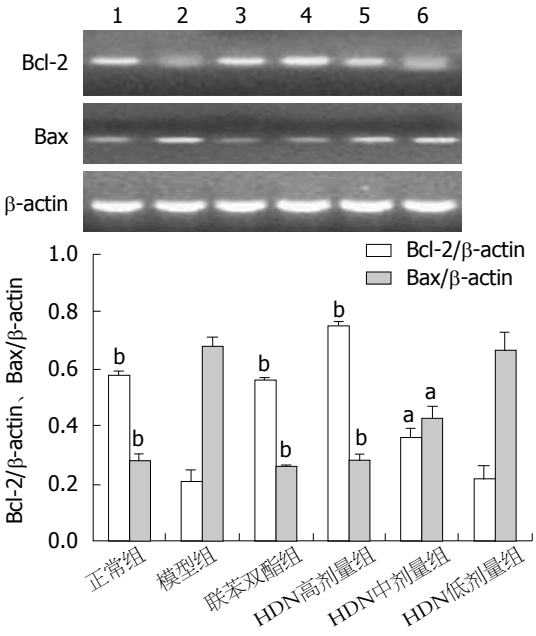


图 3 各组小鼠肝组织Bcl-2和Bax mRNA的转录水平的变化. 1: 正常组; 2: 模型组; 3: 联苯双酯组; 4: HDN高剂量组; 5: HDN中剂量组; 6: HDN低剂量组. [a]P<0.05, [b]P<0.01 *vs* 模型组. HDN: 橙皮苷.

3 讨论

APAP是临床上应用广泛的解热镇痛药物, 在正常治疗剂量下(<25 mg/d)应用是安全的, 过量使用或蓄积则会对人和动物造成严重的肝脏损害. APAP(>90%)主要经葡萄糖醛酸化或硫酸化进而排出体外, 少量经肝脏细胞色素P450代谢, 其所致肝损害主要与其中间毒性代谢产物N-乙酰-对-苯醌亚胺(N-acetyl-p-benzoquinone imine, NAPQI)有关. NAPQI可使谷胱甘肽(glutathione, GSH)耗竭, 并与大分子蛋白结合[3,22], 从而诱发氧化应激和脂质过氧化反应[3-5]、线粒体呼吸抑制和ATP耗竭[23,24]、细胞凋亡[17]、DNA损伤[25,26]等, 引起肝细胞损伤. 本实验中模型组肝指数升高, 血清ALT、AST显著升高, 肝脏病理切片显示肝细胞大片变性、坏死, 表明本实验成功建立APAP所致急性肝损伤动物模型.

SOD是体内非常重要的抗氧化酶和氧自由基清除剂, 对机体的氧化与抗氧化平衡起重要作用. GSH-PX是灭活氧自由基的一种酶, 并能阻断体内脂质过氧化的进程. 测定肝匀浆SOD和GSH-PX能够直观的反应肝脏的受损情况, 其活力的大小反映机体抗氧化和清除自基的能力. 体内SOD、GSH-PX活性越高, 自由基清除的速

■同行评价
本文设计合理, 方法先进, 具有一定的理论意义和潜在的应用价值.

度越快. MDA是脂质过氧化反应的产物, 可严重破坏细胞膜结构, 导致细胞肿胀、坏死. 因此MDA不仅是反映脂质过氧化的敏感指标, 还可间接反映出细胞损伤的程度. 实验结果显示, 与正常组相比, 模型组肝匀浆SOD、GSH-PX活力显著降低(P<0.01), MDA含量显著升高(P<0.01), 表明机体内氧化与抗氧化系统已经失衡, 机体抗氧化和清除自由基的能力显著降低, 并且肝细胞受到严重损害. 与模型组相比, HDN高、中剂量组肝匀浆SOD、GSH-PX活力均显著升高(P<0.05), MDA含量明显降低(P<0.01), 表明HDN可能通过提高SOD、GSH-PX活性, 增强机体抗氧化和清除自由基的能力, 降低肝细胞脂质过氧化作用, 维持细胞质膜的正常结构, 从而降低肝细胞的损伤程度.

关于APAP所致肝细胞死亡方式, 目前意见尚未统一. Ferret等[27]认为, 过量的APAP既可以引起肝细胞坏死也可以引起肝细胞凋亡, 肝损害中的细胞死亡40%以上是通过凋亡, 而非坏死. Gujral等[28]认为, APAP肝损害可引起肝细胞凋亡的明显增加, 但90%以上的肝细胞死亡仍然是通过坏死, 而非凋亡. 田丰等[29]认为, APAP肝损害, 早期以凋亡为主, 后期以坏死为主, 两者是共存的. Bcl-2家族蛋白的表达和调控是影响细胞凋亡的关键因素之一. *Bcl-2*和*Bax*分别是Bcl-2家族中最有代表性的抑制凋亡和促进凋亡基因，并且Bax是Bcl-2活性的主要调控因子. 近年来研究表明[30,31], Bcl-2和Bax调节细胞凋亡, 不仅取决于自身表达的高低, 还与Bax/Bcl-2的比率有关. Bax表达水平高于Bcl-2时, 则形成Bax和Bax同源二聚体, 细胞凋亡增加; Bcl-2水平高于Bax时, Bcl-2和Bax形成异源二聚体, 细胞凋亡受抑制. 实验结果显示, 模型组小鼠肝细胞凋亡严重, 肝脏中Bcl-2 mRNA表达减少, Bax mRNA表达增多; 通过HDN预处理, 小鼠肝细胞凋亡减轻, 肝脏Bcl-2 mRNA表达显著升高, Bax mRNA表达显著降低(P<0.01), 表明HDN可以调控凋亡相关基因的表达, 抑制肝脏细胞凋亡, 从而减轻肝组织损伤.

总之, HDN预处理对APAP所致小鼠急性肝损伤具有一定的保护作用, 其机制可能与其抑制肝细胞脂质过氧化反应, 提高机体抗氧化和清除自由基的能力, 调控凋亡相关基因*Bcl-2*和*Bax*的表达、升高Bcl-2/Bax比值有关, 但其具体机制尚需进一步研究.

4 参考文献

1 Wilmsen PK, Spada DS, Salvador M. Antioxidant activity of the flavonoid hesperidin in chemical and biological systems. *J Agric Food Chem* 2005; 53: 4757-4761 [PMID: 15941311]

2 Mitsunaga Y, Takanaga H, Matsuo H, Naito M, Tsuruo T, Ohtani H, Sawada Y. Effect of bioflavonoids on vincristine transport across blood-brain barrier. *Eur J Pharmacol* 2000; 395: 193-201 [PMID: 10812049 DOI: 10.1016/S0014-2999(00)00180-1]

3 Jaeschke H, Knight TR, Bajt ML. The role of oxidant stress and reactive nitrogen species in acetaminophen hepatotoxicity. *Toxicol Lett* 2003; 144: 279-288 [PMID: 12927346 DOI: 10.1016/S0378-4274(03)00239-X]

4 Kim JK, Sung NY, Srinivasan P, Choi JI, Kim SK, Oh JM, Kim JH, Song BS, Park HJ, Byun MW, Lee JW. Effect of gamma irradiated hyaluronic acid on acetaminophen induced acute hepatotoxicity. *Chem Biol Interact* 2008; 172: 141-153 [PMID: 18237725 DOI: 10.1016/j.cbi.2007.11.015]

5 Choi EM, Kim YH. Hesperetin attenuates the highly reducing sugar-triggered inhibition of osteoblast differentiation. *Cell Biol Toxicol* 2008; 24: 225-231 [PMID: 17701078 DOI: 10.1007/s10565-007-9031-0]

6 Orallo F, Alvarez E, Basaran H, Lugnier C. Comparative study of the vasorelaxant activity, superoxide-scavenging ability and cyclic nucleotide phosphodiesterase-inhibitory effects of hesperetin and hesperidin. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2004; 370: 452-463 [PMID: 15599707 DOI: 10.1007/s00210-004-0994-6]

7 Morand C, Dubray C, Milenkovic D, Lioger D, Martin JF, Scalbert A, Mazur A. Hesperidin contributes to the vascular protective effects of orange juice: a randomized crossover study in healthy volunteers. *Am J Clin Nutr* 2011; 93: 73-80 [PMID: 21068346 DOI: 10.3945/ajcn.110.004945]

8 Aranganathan S, Selvam JP, Sangeetha N, Nalini N. Modulatory efficacy of hesperetin (citrus flavanone) on xenobiotic-metabolizing enzymes during 1,2-dimethylhydrazine-induced colon carcinogenesis. *Chem Biol Interact* 2009; 180: 254-261 [PMID: 19497424 DOI: 10.1016/j.cbi.2009.03.005]

9 Tian Q, Miller EG, Ahmad H, Tang L, Patil BS. Differential inhibition of human cancer cell proliferation by citrus limonoids. *Nutr Cancer* 2001; 40: 180-184 [PMID: 11962254 DOI: 10.1207/S15327914NC402_15]

10 Winawer S, Fletcher R, Rex D, Bond J, Burt R, Ferrucci J, Ganiats T, Levin T, Woolf S, Johnson D, Kirk L, Litin S, Simmang C. Colorectal cancer screening and surveillance: clinical guidelines and rationale-Update based on new evidence. *Gastroenterology* 2003; 124: 544-560 [PMID: 12557158 DOI: 0.1053/gast.2003.50044]

11 Pradeep K, Ko KC, Choi MH, Kang JA, Chung YJ, Park SH. Protective effect of hesperidin, a citrus flavanoglycone, against γ-radiation-induced tissue damage in Sprague-Dawley rats. *J Med Food* 2012; 15: 419-427 [PMID: 22404572 DOI: 10.1089/jmf.2011.1737]

12 Kalpana KB, Devipriya N, Srinivasan M, Vishwanathan P, Thayalan K, Menon VP. Evaluating the radioprotective effect of hesperidin in the liver of Swiss albino mice. *Eur J Pharmacol* 2011; 658: 206-212 [PMID: 21371459 DOI: 10.1016/j.ejphar.2011.02.031]

13 Kalpana KB, Devipriya N, Srinivasan M, Menon VP. Investigation of the radioprotective efficacy of hesperidin against gamma-radiation induced cellular damage in cultured human peripheral blood lymphocytes. *Mutat Res* 2009; 676: 54-61 [PMID: 19486865 DOI: 10.1016/j.mrgentox.2009.03.005]
14 Kumar P, Kumar A. Protective effect of hesperidin and naringin against 3-nitropropionic acid induced Huntington's like symptoms in rats: possible role of nitric oxide. *Behav Brain Res* 2010; 206: 38-46 [PMID: 19716383 DOI: 10.1016/j.bbr.2009.08.028]
15 Cho J. Antioxidant and neuroprotective effects of hesperidin and its aglycone hesperetin. *Arch Pharm Res* 2006; 29: 699-706 [PMID: 16964766 DOI: 10.1007/BF02968255]
16 Ahmadi A, Hosseinimehr SJ, Naghshvar F, Hajir E, Ghahremani M. Chemoprotective effects of hesperidin against genotoxicity induced by cyclophosphamide in mice bone marrow cells. *Arch Pharm Res* 2008; 31: 794-797 [PMID: 18563363 DOI: 10.1007/s12272-001-1228-z]
17 Piao YJ, Choi JS. Enhanced bioavailability of verapamil after oral administration with hesperidin in rats. *Arch Pharm Res* 2008; 31: 518-522 [PMID: 18449511 DOI: 10.1007/s12272-001-1187-4]
18 Forattini OP, Kakitani I, Sallum MA, de Rezende L. [Productivity of a breeding place of Aedes albopictus in an urban environment]. *Rev Saude Publica* 1997; 31: 545-555 [PMID: 9629709 DOI: 10.1208/s12249-009-9282-6]
19 Kaur G, Tirkey N, Chopra K. Beneficial effect of hesperidin on lipopolysaccharide-induced hepatotoxicity. *Toxicology* 2006; 226: 152-160 [PMID: 16919860 DOI: 10.1016/j.tox.2006.06.018]
20 Tirkey N, Pilkhwal S, Kuhad A, Chopra K. Hesperidin, a citrus bioflavonoid, decreases the oxidative stress produced by carbon tetrachloride in rat liver and kidney. *BMC Pharmacol* 2005; 5: 2 [PMID: 15683547 DOI: 10.1186/1471-2210-5-2]
21 Ahmad ST, Arjumand W, Nafees S, Seth A, Ali N, Rashid S, Sultana S. Hesperidin alleviates acetaminophen induced toxicity in Wistar rats by abrogation of oxidative stress, apoptosis and inflammation. *Toxicol Lett* 2012; 208: 149-161 [PMID: 22093918 DOI: 10.1016/j.toxlet.2011.10.023]
22 Nelson SD. Molecular mechanisms of the hepatotoxicity caused by acetaminophen. *Semin Liver Dis* 1990; 10: 267-278 [PMID: 2281334 DOI: 10.1055/s-2008-1040482]
23 Meyers LL, Beierschmitt WP, Khairallah EA, Cohen SD. Acetaminophen-induced inhibition of hepatic mitochondrial respiration in mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 1988; 93: 378-387 [PMID: 3368917 DOI: 10.1016/0041-008-X]
24 Kon K, Kim JS, Jaeschke H, Lemasters JJ. Mitochondrial permeability transition in acetaminophen-induced necrosis and apoptosis of cultured mouse hepatocytes. *Hepatology* 2004; 40: 1170-1179 [PMID: 15486922 DOI: 10.1002/hep.20437]
25 Bajt ML, Cover C, Lemasters JJ, Jaeschke H. Nuclear translocation of endonuclease G and apoptosis-inducing factor during acetaminophen-induced liver cell injury. *Toxicol Sci* 2006; 94: 217-225 [PMID: 16896059 DOI: 10.1093/toxsci/kfl077]
26 McGill MR, Sharpe MR, Williams CD, Taha M, Curry SC, Jaeschke H. The mechanism underlying acetaminophen-induced hepatotoxicity in humans and mice involves mitochondrial damage and nuclear DNA fragmentation. *J Clin Invest* 2012; 122: 1574-1583 [PMID: 22378043 DOI: 10.1172/JCI59755]
27 Ferret PJ, Hammoud R, Tulliez M, Tran A, Trébéden H, Jaffray P, Malassagne B, Calmus Y, Weill B, Batteux F. Detoxification of reactive oxygen species by a nonpeptidyl mimic of superoxide dismutase cures acetaminophen-induced acute liver failure in the mouse. *Hepatology* 2001; 33: 1173-1180 [PMID: 11343246 DOI: 10.1053/jhep.2001.24267]
28 Gujral JS, Knight TR, Farhood A, Bajt ML, Jaeschke H. Mode of cell death after acetaminophen overdose in mice: apoptosis or oncotic necrosis? *Toxicol Sci* 2002; 67: 322-328 [PMID: 12011492]
29 田丰, 李岩, 王颖, 吴作艳, 王学清. 扑热息痛引起肝细胞损害机制. 世界华人消化杂志 2006; 14: 1107-1110
30 Brooks C, Dong Z. Regulation of mitochondrial morphological dynamics during apoptosis by Bcl-2 family proteins: a key in Bak? *Cell Cycle* 2007; 6: 3043-3047 [PMID: 18073534 DOI: 10.4161/cc.6.24.5115]
31 张德芹, 张建军, 钟赣生, 王景霞, 胡素敏, 高学敏. 芪蓝糖脂宁胶囊对糖尿病合并高脂血症大鼠肝细胞凋亡及Bax、Bcl-2蛋白表达的影响. 中华中医药杂志 2005; 20: 211-213

编辑 田滢 电编 闫晋利

世界华人消化杂志 2013年5月18日; 21(14): 1286-1291
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

微生态制剂治疗肝衰竭内毒素血症的研究进展

袁林艳, 吴亚云, 李 宏

■背景资料
肠源性内毒素血症(intestinal endotoxemia, IETM)是肝衰竭发生和发展的重要机制之一. 各种微生态制剂可调节肠道菌群失调, 从而降低血清内毒素水平, 减少并发症和降低病死率, 对肝衰竭有明显的治疗作用, 从而在一定程度上改善肝衰竭患者的预后.

袁林艳, 吴亚云, 李宏, 贵阳医学院附属医院感染科 贵州省 贵阳市 550004
袁林艳, 在读硕士, 主要从事病毒性肝炎的研究.
作者贡献分布: 本文综述由袁林艳完成; 吴亚云与李宏负责审校.
通讯作者: 吴亚云, 主任医师, 550004, 贵州省贵阳市贵医街28号, 贵阳医学院附属医院感染科. gzwuyy@yahoo.cn
电话: 0851-6773914
收稿日期: 2013-03-13 修回日期: 2013-04-06
接受日期: 2013-04-12 在线出版日期: 2013-05-18

Microbial modulators for treatment of liver failure with endotoxemia: Research progress

Lin-Yan Yuan, Ya-Yun Wu, Hong Li

Lin-Yan Yuan, Ya-Yun Wu, Hong Li, Department of Infectious Diseases, Guiyang Medical College Hospital, Guiyang 550004, Guizhou Province, China
Correspondence to: Ya-Yun Wu, Chief Physician, Department of Infectious Diseases, Guiyang Medical College Hospital, 28 Guiyi Street, Guiyang 550004, Guizhou Province, China. gzwuyy@yahoo.cn
Received: 2013-03-13 Revised: 2013-04-06
Accepted: 2013-04-12 Published online: 2013-05-18

Abstract
Intestinal endotoxemia is one of the important mechanisms behind the onset and development of liver failure. Intestinal flora or intestinal barrier dysfunction can cause intestinal endotoxemia. Various kinds of microbial products can decrease serum levels of endotoxin and reduce complications and mortality by improving intestinal microflora imbalance and inhibiting Gram-negative bacterial overgrowth. Microbial modulators show significant therapeutic effects in the treatment of liver failure, which has become a research focus in improving endotoxemia associated with liver failure. However, the compatibility of various microbial modulators and antibiotics when combined should arouse the attention of clinicians. This article reviews the types of microbial modulators, their mechanisms of action and combination use with probiotics, and the compatibility when combined with antibiotics.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Liver failure; Endotoxemia; Probiotics; Microbial modulators; Non-antibiotic preparations

Yuan LY, Wu YY, Li H. Microbial modulators for treatment of liver failure with endotoxemia: Research progress. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(14): 1286-1291 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1286.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i14.1286

摘要
肠源性内毒素血症(intestinal endotoxemia, IETM)是肝衰竭发生和发展的重要机制之一, 而肝衰竭时肠道菌群失调, 肠屏障功能不全造成了IETM. 各种微生态制剂可调节肠道菌群失调, 抑制G-杆菌过度繁殖, 从而降低血清内毒素水平, 减少并发症和降低病死率, 对肝衰竭有明显的治疗作用, 已成为改善肝衰竭内毒素血症的研究热点. 但各种微生态制剂的联用疗效及与抗生素的配伍问题均值得临床医生的关注. 本文就微生态制剂的种类、作用机制、联合应用以及与抗生素的配伍问题作一综述.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 肝功能衰竭; 内毒素血症; 益生菌; 微生态制剂; 非抗生素制

核心提示: 肠源性内毒素血症(intestinal endotoxemia)是肝衰竭发生和发展的重要机制之一. 各种微生态制剂可调节肠道菌群失调, 从而降低血清内毒素水平, 减少并发症和降低病死率, 对肝衰竭有明显的治疗作用.

袁林艳, 吴亚云, 李宏. 微生态制剂治疗肝衰竭内毒素血症的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(14): 1286-1291 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1286.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i14.1286

0 引言
肝脏在受到各种原发致病因素(如肝炎病毒、乙醇、损肝性药物与毒物等)损伤后, 由于肝脏合成功能下降, 补体生成不足, 补体的免疫调节作用减弱, 肝枯否氏细胞吞噬功能受损, 不能有效

■同行评议者
郑素军, 副教授, 副主任医师, 首都医科大学附属北京佑安医院人工肝中心

清除来自门静脉和体循环的细菌及其代谢产物如内毒素, 加之肝病时肠屏障功能受损也可使大量细菌和内毒素经由门静脉和淋巴系统直接侵入体循环, 加重细菌易位和出现肠源性内毒素血症(intestinal endotoxemia, IETM). 内毒素除直接损伤肝细胞, 诱导肝细胞凋亡, 损伤肠黏膜细胞, 引起肠微循环收缩, 还可以触发单核-吞噬细胞活化并释放大量细胞因子, 这些细胞因子包括肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor-alpha, TNF-α)、白介素(interleukin, IL)及一氧化氮等, 其中以TNF-α为核心的一系列细胞因子又与内毒素互相激发, 呈现瀑布效应, 通过加重肝脏微循环障碍和肝细胞的免疫损伤等一系列机制, 进一步加重肝损伤, 引起所谓的“继发性肝损伤”, 致肝病重症化, 甚至发生肝衰竭并诱发全身各器官的损害[1-5]. 肝衰竭发生后, 又进一步加重IETM, 形成恶性循环. 在肝原发性损伤-肠源性内毒素血症-TNF-α-继发性肝损伤-严重的肠源性内毒素血症-肝病重症化这一过程中, 内毒素及TNF-α起着非常重要的作用. 随着人们对于肝衰竭发病机制的认识不断深入, 在防治肝衰竭时, 除针对各种原发致肝损伤因素进行的治疗外, 对于引起继发性肝损伤因素也愈加重视, 只要能阻断瀑布效应中肠道功能障碍-内毒素血症-细胞因子这条核心路径的“触发开关”即IETM, 就能有效预防肝病重症化, 甚至改善肝衰竭患者的预后.

1 微生态制剂概述及其作用

微生态制剂, 是利用对宿主有益的正常微生物或其促微生物生长物所制成的生态制剂, 可以有效调整肠道菌群失调, 恢复肠道微生态环境, 抑制G-杆菌过度繁殖, 明显降低血清内毒素水平. 在细胞因子水平上, 微生态制剂能够降低TNF-α、IL-6含量, 升高IL-2、IL-10水平, 抑制炎性介质的产生和减轻免疫反应对肝细胞的损伤, 从而改善重型肝炎患者的临床症状和肝功能[6,7]. 目前微生态制剂已成为改善肝衰竭内毒素血症的研究热点, 本文将对微生态制剂治疗肝衰竭肠源性内毒素血症的研究进展进行综述.

微生态制剂分为3类[8]: 第1类是活菌制剂(益生菌); 第2类是优势种群生长促进物质(益生元); 第3类是活菌与促活菌物质的联合制剂(合生元). 目前临床上应用最多的是益生菌和益生元.

1.1 益生菌 能促进肠道菌群平衡, 保护厌氧菌, 防止细菌过度生长, 稳定肠黏膜屏障功能, 减少细菌移位, 从而减少内毒素的产生和释放[9]. 根据所含菌的种数可分为联合菌制剂和单菌制剂. 临床上常用的是乳酸菌, 包括乳杆菌、肠球菌及双歧杆菌, 其次还有地衣芽胞杆菌和酪酸梭菌.

1.1.1 双歧杆菌活菌制剂: 可以直接补充肠道内益生菌, 其代谢过程中产生酸性物质, 降低肠道pH值, 影响G-菌的存活和繁殖, 减少内毒素生成和吸收, 减轻对肝脏的损伤. 多项研究表明[10,11], 服用双歧杆菌可提高IgA分泌, 增加外周血细胞非特异性的吞噬功能, 增强肠道局部免疫力, 有效地减少细菌移位, 从而降低内毒素血症. Osman等[12]发现双歧杆菌对内毒素诱导的小鼠急性肝衰竭有降低内毒素水平的作用.

1.1.2 双歧三联活菌制剂: 双歧三联活菌制剂是双歧杆菌、嗜酸乳杆菌、肠球菌三联活菌制剂. 他与肠黏膜上皮细胞紧密结合形成天然的生物屏障, 直接补充肠道益生菌(双歧杆菌、乳酸杆菌)数量, 促进其他厌氧菌生长, 降低肠内pH值, 抑制潜在致病菌(G-杆菌等需氧菌)繁殖, 从而减少肠道内毒素的产生和吸收. 在慢性肝衰竭患者常规保肝治疗基础上, 加用双歧三联活菌胶囊, 可调整肠道菌群失调, 减少内毒素的产生, 从而减轻IETM对肝脏的损害[13]. 由于微生态制剂的应用能促进有益菌的生长, 抑制腐败菌的繁殖, 降低血氨的量, 降低肠道pH, 促进氨从肠道中排除, 从而对肝衰竭患者肝性脑病的发生有预防及治疗作用[14,15]. 在兔模型中发现双歧杆菌和肠球菌联用可以明显降低内毒素水平, 改善凝血及肝脏功能, 并且要优于单用乳酸杆菌[16].

1.1.3 地衣芽孢杆菌活菌胶囊: 地衣芽孢杆菌活菌胶囊为地衣芽孢杆菌, 该菌以活菌进入肠道后, 在肠道内迅速繁殖, 造成肠道低氧环境, 促进有益菌的生长, 拮抗致病菌的繁殖, 通过这种双重作用来减少肠道内毒素的产生和易位, 降低内毒素水平. 张月新[17]研究发现整肠生可改善急性肝损伤大鼠肠道菌群失调, 降低血浆内毒素水平, 对急性肝损伤具有明显保护作用.

1.1.4 酪酸梭菌活菌片: 地衣芽孢杆菌活菌胶囊为新一代微生态制剂, 是含有酪酸梭状芽孢杆菌的活菌制剂, 有维生素B2、维生素B6和泛酸钙. 可促进肠道内有益菌生长, 抑制有害菌繁殖, 其代谢物可促进肠上皮的修复和再生, 恢复及维持肠道微生态平衡, 纠正肠道菌群失调, 抑制G-菌过度生长, 阻止细菌移位, 降低肠道渗透

■研发前沿
肝衰竭是临床急症, 病死率高, 微生态制剂可通过调节肠道菌群失调, 改善肠道屏障功能, 减轻IETM, 对其有明显的治疗作用, 但其如何应用才能取得最大疗效, 有待进一步研究.

■相关报道
Eguchi等在肝移植术中应用合生元制剂可以减少术后的感染性并发症.

性, 恢复肠黏膜屏障, 从而降低IETM的发生. 研究发现酪酸梭菌能减少急性肝衰竭内毒素的生成和释放, 缓解IETM, 从而减轻肝组织的继发性损伤[18]. 并且其产生的酪酸能有效抑制核因子κB(nuclear factor κB, NF-κB)向细胞核内的转移, 同时抑制NF-κB和DNA的结合, 从而抑制了TNF-α等一系列促炎症因子的基因表达, 起到有效治疗肝病的作用[19]. 肝硬化患者服用酪酸梭菌制剂1 mo, 可明显降低血氨浓度, 改善肝性脑病, 并可降低血清总胆红素, 改善分级[20].

1.2 益生元 益生元指能够选择性地促进宿主肠道内原有的一种或几种有益菌生长繁殖的物质. 通过促进有益菌的繁殖, 抑制有害菌的生长, 从而达到调整肠道菌群, 改善肠道微生态失衡状态. 目前, 临床应用的主要是低聚糖类, 包括乳果糖和拉克替醇等.

1.2.1 乳果糖: 乳果糖能选择性刺激肠道有益菌的生长, 抑制肠杆菌科细菌的繁殖, 改善肠道微生态失衡状态[21]. 乳果糖可在肠腔中直接灭活内毒素, 并具有渗透性通便特性, 从而防治IETM, 而几乎无任何不良反应. 乳果糖还可刺激肠道免疫系统免疫球蛋白A(immunoglobulin A, IgA)的分泌, 提高肠道局部免疫力. 临床上应用乳果糖预防和治疗肝性脑病已取得了肯定的疗效[22,23]. 有研究发现在血浆置换治疗的基础上给予患者口服乳果糖, 可进一步减少肠源性内毒素的来源, 明显降低血清内毒素水平, 改善慢性重型肝炎患者的预后[24]. 另外, 乳果糖还有改善肝衰竭患者认知功能和生活质量的作用[25].

1.2.2 拉克替醇: 拉克替醇在国外广泛用于治疗肝性脑病, 其在胃肠道内不被双糖酶水解而吸收, 保留灌肠后以原形存在于结肠. 结肠菌群(主要是类杆菌和乳酸杆菌)将拉克替醇降解为短链有机酸, 酸化结肠内容物, 降低肠道pH值, 抑制G-杆菌的繁殖, 使内毒素生成和吸收减少, 减轻其对肝脏的损害. 在慢性肝衰竭患者的胃肠外营养剂中添加拉克替醇可以有效抑制大肠杆菌增殖, 降低内源性感染的发生率[26]. 将拉克替醇保留灌肠可减轻重型肝炎/肝衰竭患者的肠源性内毒素所致的继发损伤[27]. 最新研究发现拉克替醇对慢性病毒学肝炎患者内毒素血症有抗氧化保护作用, 他是通过调节肠道菌群及降低IETM来实现这种作用的[28].

1.3 合生元 为益生菌和益生元的混合制剂, 或再加入维生素、微量元素等. 合生元作为新一代微生态制剂, 既可发挥益生菌的生理性细菌活性, 又可选择性地快速增加这种菌的数量, 使益生菌和益生元有协调作用, 共同维护肠道的微生态平衡. 有报道称在肝移植术中应用合生元制剂可以减少术后的感染性并发症[29,30]. 对肝性脑病的患者应用合生元, 可使肠道菌群正常化, 肝脏Child-Pugh分级改善, IETM明显减轻[31]. 目前现有的随机对照实验证明了合生元的治疗作用, 但是在临床上广泛应用合生元之前, 仍需大量实验以证实其安全性[32]. 因此合生元制剂对肝源性肠道内毒素血症的治疗作用有待于进一步研究.

2 微生态制剂的联合使用

2.1 益生菌与益生元的联合使用可提高疗效 各种微生态制剂单用均能不同程度的改善肝衰竭IETM, 那么其联用疗效是否更好? 益生菌在肠道内的作用机制类似, 临床上应避免2种或多种益生菌联合使用, 但如果是益生菌与益生元(如乳果糖)搭配合用则值得推荐, 因为两者具有协同作用[33], 可提高疗效. 酪酸梭菌联合乳果糖治疗轻微型肝性脑病能降低血氨、内毒素, 降低肝性脑病的发生率, 且优于单用乳果糖[34]. 在动物实验中发现, 将益生元与益生菌联用可以有效减少肠道菌群易位, 对小鼠的肝衰竭具有保护作用[35]. 整肠生和乳果糖联用可明显改善慢性重型肝炎患者的临床症状, 降低内毒素水平, 减少自发性腹膜炎、肝性脑病和肝肾综合征等并发症的发生率和病死率[36].

2.2 微生态制剂与抗菌药物的配伍问题 微生态制剂对临床上使用的大多数抗生素都敏感[37], 两者联用容易导致微生态制剂失效或疗效降低, 因此两者不宜同时应用. 但肝衰竭患者因肠道屏障功能障碍致大量细菌移位、免疫功能下降等原因, 极易并发细菌感染, 故患者需选用抗生素控制感染. 因此临床上可选用微生态制剂联合与其耐药的抗菌药物来治疗肝衰竭IETM, 其中酪酸梭菌活菌制剂在这方面有明显的优势. 对于存在配伍禁忌的抗菌药物和微生态制剂可采用间隔序惯疗法[38,39], 即先采用抗菌药物对症支持治疗, 间隔2-3 h后再使用微生态制剂. 这样可减少抗菌药物对微生态制剂的杀灭作用, 从而提高疗效. 目前临床常用的双歧杆菌四联活菌片及双歧三联活菌制剂对抗菌药物均敏感; 地衣芽孢杆菌活菌胶囊对青霉素类、头孢菌素类、红霉素、克林霉素有不同程度的耐药, 对氨基苷类、喹诺酮类等抗菌药物敏感; 酪酸梭

菌活菌片对头孢菌素类、氨基苷类、复方新诺明耐药, 对青霉素类、红霉素、克林霉素、喹诺酮类等抗菌药物敏感. 因此根据药物敏感性试验, 地衣芽孢杆菌活菌胶囊、酪酸梭菌活菌片可以与耐药的抗菌药物联用, 双歧杆菌四联活菌片等与抗菌药物有配伍禁忌, 应避免联用, 必须联用时应错开服用时间[37,40]. 另外长期应用广谱抗生素可引起肠道微生态失调, 加重IETM[41]. 因此在控制感染的前提下, 不应长期使用广谱抗生素. 停用抗生素后, 需用微生态制剂尽快扶持, 恢复肠道微生态平衡[42].

3 微生态制剂的安全性评价及展望

目前大多数微生态制剂已被广泛使用多年, 较为安全. 在重症监护病房, 微生态制剂的出现, 为抗生素相关性腹泻、呼吸机相关性肺炎及坏死性小肠结肠炎等危重患者带来福音, 随着抗生素耐药率增加和新型抗生素的研究减少, 预防和治疗院内感染已重点转移到非抗生素制剂的使用上[43-45], 因此, 微生态制剂在治疗某些疾病上有望替代抗生素的使用, 其用于肝病的治疗已是国内外研究的热点[46,47]. 但有报道称在有肝脓肿、菌血症、胸膜炎、心内膜炎情况下, 以及免疫缺陷者、抵抗力低下的危重患者, 要慎用或者避免应用微生态制剂[48]. 有学者认为对准备接受肝移植的肝衰竭患者不应使用活菌制剂, 因为有可能导致术后的菌血症, 应以益生元的低聚糖类为主[49], 但近期研究显示肝移植术后应用益生菌可以改善机体的营养状况, 促进肝功能恢复, 并降低炎症反应、减少术后感染及胃肠道不良反应的发生率[50,51]. 微生态制剂已广泛应用于慢性肝病的治疗, 与慢性肝病患者的治疗相比, 肝衰竭患者应该用什么菌种、多大剂量、多长疗程才能取得最大效果? 对准备接受肝移植的肝衰竭患者应用哪种微生态制剂效果更佳? 微生态制剂的慎用或禁用人群? 以及其安全性问题等? 以上问题都有待于进一步收集更多的临床病例, 进行研究和分析.

总之, 微生态制剂作为肝衰竭IETM的辅助治疗可以降低内毒素血症水平, 改善患者的临床症状及预后, 所以在综合治疗肝衰竭时不应忽视肠道微生态失调的作用, 利用微生态制剂维护肠道微生态平衡, 改善肠道屏障功能, 对治疗肝衰竭有着积极的作用.

■创新盘点

在综合治疗肝衰竭时不应忽视肠道微生态失调的作用, 从保护肠道屏障入手治疗肝衰竭有很大潜力.

4 参考文献

1 Crispe IN, Giannandrea M, Klein I, John B, Sampson B, Wuensch S. Cellular and molecular mechanisms of liver tolerance. *Immunol Rev* 2006; 213: 101-118 [PMID: 16972899 DOI: 10.1111/j.1600-065X.2006.00435.x]

2 Adams DH, Eksteen B, Curbishley SM. Immunology of the gut and liver: a love/hate relationship. *Gut* 2008; 57: 838-848 [PMID: 18203807 DOI: 10.1136/gut.2007.122168]

3 Bouchama A, Roberts G, Al Mohanna F, El-Sayed R, Lach B, Chollet-Martin S, Ollivier V, Al Baradei R, Loualich A, Nakeeb S, Eldali A, de Prost D. Inflammatory, hemostatic, and clinical changes in a baboon experimental model for heatstroke. *J Appl Physiol* 2005; 98: 697-705 [PMID: 15475604 DOI: 10.1152/japplphysiol.00461.2004]

4 Song HL, Lv S, Liu P. The roles of tumor necrosis factor-alpha in colon tight junction protein expression and intestinal mucosa structure in a mouse model of acute liver failure. *BMC Gastroenterol* 2009; 9: 70 [PMID: 19772664 DOI: 10.1186/1471-230X-9-70]

5 Catalioto RM, Maggi CA, Giuliani S. Intestinal epithelial barrier dysfunction in disease and possible therapeutical interventions. *Curr Med Chem* 2011; 18: 398-426 [PMID: 21143118]

6 卢明芹, 郑宇, 陈永平. 微生态制剂对重型肝炎患者血清细胞因子的影响. 中华肝脏病杂志 2008; 16: 632-634

7 何皖. 微生态制剂对重型肝炎患者血清细胞因子的影响. 细胞与分子免疫学杂志 2011; 27: 565-567

8 Scarpellini E, Cazzato A, Lauritano C, Gabrielli M, Lupascu A, Gerardino L, Abenavoli L, Petruzzellis C, Gasbarrini G, Gasbarrini A. Probiotics: which and when? *Dig Dis* 2008; 26: 175-182 [PMID: 18431068 DOI: 10.1159/000116776]

9 Cesaro C, Tiso A, Del Prete A, Cariello R, Tuccillo C, Cotticelli G, Del Vecchio Blanco C, Loguercio C. Gut microbiota and probiotics in chronic liver diseases. *Dig Liver Dis* 2011; 43: 431-438 [PMID: 21163715 DOI: 10.1016/j.dld.2010.10.015]

10 Nolan JP. The role of intestinal endotoxin in liver injury: a long and evolving history. *Hepatology* 2010; 52: 1829-1835 [PMID: 20890945 DOI: 10.1002/hep.23917]

11 Norman K, Pirlich M. Gastrointestinal tract in liver disease: which organ is sick? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2008; 11: 613-619 [PMID: 18685458 DOI: 10.1097/MCO.0b013e32830a70bc]

12 Osman N, Adawi D, Ahrné S, Jeppsson B, Molin G. Endotoxin- and D-galactosamine-induced liver injury improved by the administration of Lactobacillus, Bifidobacterium and blueberry. *Dig Liver Dis* 2007; 39: 849-856 [PMID: 17652039 DOI: 10.1016/j.dld.2007.06.001]

13 黄培宁, 邓有辉. 微生态制剂对慢性肝衰竭患者肠道菌群、血浆内毒素及细胞因子的影响. 中华医院感染学杂志 2011; 21: 3798-3800

14 McGee RG, Bakens A, Wiley K, Riordan SM, Webster AC. Probiotics for patients with hepatic encephalopathy. *Cochrane Database Syst Rev* 2011; (11): CD008716 [PMID: 22071855 DOI: 10.1002/14651858.CD008716.pub2]

15 Foster KJ, Lin S, Turck CJ. Current and emerging strategies for treating hepatic encephalopathy. *Crit Care Nurs Clin North Am* 2010; 22: 341-350 [PMID: 20691385 DOI: 10.1016/j.ccell.2010.04.007]

16 Zhang W, Gu Y, Chen Y, Deng H, Chen L, Chen S, Zhang G, Gao Z. Intestinal flora imbalance results in altered bacterial translocation and liver function

■同行评价

本文就微生态制剂的种类、作用机制、联合应用以及其与抗生素的配伍问题方面作了综述, 内容全面, 对临床工作有一定的指导价值.

in rats with experimental cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2010; 22: 1481-1486 [PMID: 20739895 DOI: 10.1097/MEG.0b013e32833eb8b0]

17 张月新. 益生菌对急性肝损伤肠源性内毒素血症保护作用的研究. 山西医科大学, 2012: 1-7

18 于淦, 吴亚云, 程明亮. 急性肝衰竭大鼠肠源性内毒素血症的干预研究. 第二十一次全国中西医结合肝病学术会议论文汇编, 2012: 104-113

19 Yin L, Laevsky G, Giardina C. Butyrate suppression of colonocyte NF-kappa B activation and cellular proteasome activity. *J Biol Chem* 2001; 276: 44641-44646 [PMID: 11572859 DOI: 10.1074/jbc.M105170200]

20 Sharma P, Sharma BC, Puri V, Sarin SK. An open-label randomized controlled trial of lactulose and probiotics in the treatment of minimal hepatic encephalopathy. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2008; 20: 506-511 [PMID: 18467909 DOI: 10.1097/MEG.0b013e3282f3e6f5]

21 Shukla S, Shukla A, Mehboob S, Guha S. Meta-analysis: the effects of gut flora modulation using prebiotics, probiotics and synbiotics on minimal hepatic encephalopathy. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 33: 662-671 [PMID: 21251030 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2010.04574.x]

22 Phongsamran PV, Kim JW, Cupo Abbott J, Rosenblatt A. Pharmacotherapy for hepatic encephalopathy. *Drugs* 2010; 70: 1131-1148 [PMID: 20518580 DOI: 10.2165/10898630-000000000-00000]

23 Agrawal A, Sharma BC, Sharma P, Sarin SK. Secondary prophylaxis of hepatic encephalopathy in cirrhosis: an open-label, randomized controlled trial of lactulose, probiotics, and no therapy. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1043-1050 [PMID: 22710579 DOI: 10.1038/ajg.2012.113]

24 于建武, 高杰, 赵勇华, 王淑琴, 李树臣. 乳果糖联合血浆置换治疗对慢性重型肝炎患者内毒素血症的影响. 肝脏 2006; 11: 28-29

25 Prasad S, Dhiman RK, Duseja A, Chawla YK, Sharma A, Agarwal R. Lactulose improves cognitive functions and health-related quality of life in patients with cirrhosis who have minimal hepatic encephalopathy. *Hepatology* 2007; 45: 549-559 [PMID: 17326150 DOI: 10.1002/hep.21533]

26 Plauth M, Cabré E, Campillo B, Kondrup J, Marchesini G, Schütz T, Shenkin A, Wendon J. ESPEN Guidelines on Parenteral Nutrition: hepatology. *Clin Nutr* 2009; 28: 436-444 [PMID: 19520466 DOI: 10.1016/j.clnu.2009.04.019]

27 阮运河, 张晓苇, 游建平. 拉克替醇保留灌肠对重型肝炎患者肠源性内毒素血症的影响. 中国实用医药杂志 2007; 2: 32-33

28 Chen C, Yu X, Lu H, Xiao D, Mao W, Li L. Antioxidant protective effects of lactitol against endotoxemia in patients with chronic viral hepatitis. *Mol Med Rep* 2013; 7: 401-405 [PMID: 23165913 DOI: 10.3892/mmr.2012.1188]

29 Eguchi S, Takatsuki M, Hidaka M, Soyama A, Ichikawa T, Kanematsu T. Perioperative symbiotic treatment to prevent infectious complications in patients after elective living donor liver transplantation: a prospective randomized study. *Am J Surg* 2011; 201: 498-502

30 Shimizu K, Ogura H, Asahara T, Nomoto K, Morotomi M, Tasaki O, Matsushima A, Kuwagata Y, Shimazu T, Sugimoto H. Probiotic/synbiotic therapy for treating critically ill patients from a gut microbiota perspective. *Dig Dis Sci* 2013; 58: 23-32 [PMID: 22903218 DOI: 10.1007/s10620-012-2334-x]

31 Liu Q, Duan ZP, Ha DK, Bengmark S, Kurtovic J, Riordan SM. Synbiotic modulation of gut flora: effect on minimal hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis. *Hepatology* 2004; 39: 1441-1449 [PMID: 15122774 DOI: 10.1002/hep.20194]

32 Rayes N, Seehofer D, Neuhaus P. Prebiotics, probiotics, synbiotics in surgery--are they only trendy, truly effective or even dangerous? *Langenbecks Arch Surg* 2009; 394: 547-555 [PMID: 19084991 DOI: 10.1007/s00423-008-0445-9]

33 谢惠民, 合理用药. 第4版. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 474

34 文圣恩. 酪酸梭菌联合乳果糖治疗轻微型肝性脑病的临床分析. 基层医学论坛, 2012

35 Rishi P, Mavi SK, Bharrhan S, Shukla G, Tewari R. Protective efficacy of probiotic alone or in conjunction with a prebiotic in Salmonella-induced liver damage. *FEMS Microbiol Ecol* 2009; 69: 222-230 [PMID: 19496820 DOI: 10.1111/j.1574-6941.2009.00703.x]

36 占国清, 谭华炳, 李儒贵,李儒贵, 李金科, 张薇薇, 杜卫星, 李刚. 微生态调节剂在慢性重型肝炎患者的治疗作用. 中国微生态学杂志 2010; 22: 935-937

37 唐双意, 钟小斌, 陈龙英, 蓝义菊. 常用微生态制剂的体外药敏试验. 中国微生态学杂志 2007; 19: 27-31

38 周慧, 李洪福, 崔云龙. 酪酸梭菌活菌散与抗菌药间隔序贯应用预防抗生素相关性腹泻疗效观察. 中国微生态学杂志 2009; 21: 743-746

39 王威, 杨强. 微生态制剂的临床应用和研究进展. 中国误诊学杂志 2010; 10: 1533-1534

40 叶玲梅, 蔡咏梅, 陆红云. 3种微生态制剂对抗菌药物的敏感性检测. 中国药业 2012; 21: 33-35

41 Robinson CJ, Young VB. Antibiotic administration alters the community structure of the gastrointestinal micobiota. *Gut Microbes* 2010; 1: 279-284 [PMID: 20953272 DOI: 10.4161/gmic.1.4.12614]

42 Gratz SW, Mykkanen H, El-Nezami HS. Probiotics and gut health: a special focus on liver diseases. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 403-410 [PMID: 20101763 DOI: 10.3748/wjg.v16.i4.403]

43 Morrow LE, Gogineni V, Malesker MA. Probiotic, prebiotic, and synbiotic use in critically ill patients. *Curr Opin Crit Care* 2012; 18: 186-191 [PMID: 22343306 DOI: 10.1097/MCC.0b013e3283514b17]

44 Nair V, Soraisham AS. Probiotics and prebiotics: role in prevention of nosocomial sepsis in preterm infants. *Int J Pediatr* 2013; 2013: 874726 [PMID: 23401695 DOI: 10.1155/2013/874726]

45 Barraud D, Bollaert PE, Gibot S. Impact of the administration of probiotics on mortality in critically ill adult patients: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Chest* 2013; 143: 646-655 [PMID: 23460153 DOI: 10.1378/chest.12-1745]

46 Kirpich IA, McClain CJ. Probiotics in the treatment of the liver diseases. *J Am Coll Nutr* 2012; 31: 14-23 [PMID: 22661622]

47 Lata J, Jurankova J, Kopacova M, Vitek P. Probiotics in hepatology. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 2890-2896 [PMID: 21734800 DOI: 10.3748/wjg.v17.i24.2890]

48 Madsen K. Probiotics in critically ill patients. *J Clin Gastroenterol* 2008; 42 Suppl 3: S116-S118 [PMID: 18806700 DOI: 10.1097/MCG.0b013e31817283cb]

49 Shi SH, Kong HS, Jia CK, Xu J, Zhang WJ, Wang WL, Shen Y, Zhang M, Zheng SS. Coagulase-negative staphylococcus and enterococcus as predominant pathogens in liver transplant recipients with Gram-positive coccal bacteremia. *Chin Med J* (Engl)

2010; 123: 1983-1988 [PMID: 20819529]
50 刘海潮, 张水军, 郭文治, 李捷. 益生菌在肝移植术后病人应用的临床研究. 北京: 中国学术期刊电子杂志社, 2012: 54-55
51 Jeppsson B, Mangell P, Thorlacius H. Use of probiotics as prophylaxis for postoperative infections. *Nutrients* 2011; 3: 604-612 [PMID: 22254113 DOI: 10.3390/nu3050604]

编辑 田滢 电编 闫晋利

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》出版流程

本刊讯 《世界华人消化杂志》[ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569]是一份同行评议性和开放获取(open access, OA)的旬刊, 每月8、18、28号按时出版. 具体出版流程介绍如下:

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

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

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

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

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

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

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

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

《世界华人消化杂志》从收稿到发行每一步都经过严格审查, 保证每篇文章高质量出版, 是消化病学专业人士发表学术论文首选的学术期刊之一. 为保证作者研究成果及时公布, 《世界华人消化杂志》保证每篇文章四月内完成. (《世界华人消化杂志》编辑部)

世界华人消化杂志 2013年5月18日; 21(14): 1292-1296
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

辅助治疗与新辅助治疗在胰腺癌治疗中的作用

黄 鹏, 钟翔宇, 徐 艺, 崔云甫

■背景资料
胰腺癌近几年来发病率有所增加, 而手术后患者5年生存率较低, 所以胰腺癌的辅助治疗与新辅助治疗成为近年来研究的热点问题.

黄鹏, 钟翔宇, 徐艺, 崔云甫, 哈尔滨医科大学附属第二医院普外一科 黑龙江省哈尔滨市 150086
黄鹏, 硕士, 主要从事肝胆胰腺外科的临床研究.
黑龙江省科技厅攻关项目, No. GC12C304-1
作者贡献分布: 本文主要由黄鹏完成; 钟翔宇与徐艺收集文献; 崔云甫审校.
通讯作者: 崔云甫, 教授, 主任医师, 博士生导师, 150086, 黑龙江省哈尔滨市南岗区学府路246号, 哈尔滨医科大学附属第二医院普外一科. yfcui777@hotmail.com
收稿日期: 2013-03-04 修回日期: 2013-03-18
接受日期: 2013-03-29 在线出版日期: 2013-05-18

Role of neoadjuvant therapy and adjuvant therapy in treatment of pancreatic cancer

Peng Huang, Xiang-Yu Zhong, Yi Xu, Yun-Fu Cui

Peng Huang, Xiang-Yu Zhong, Yi Xu, Yun-Fu Cui, Department of General Surgery (Division I), the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China
Supported by: Department of Science Research Project in Heilongjiang Province, No. GC12C304-1
Correspondence to: Yun-Fu Cui, Professor, Chief Physician, Department of General Surgery (Division I), the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, 246 Xuefu Road, Nangang District, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. yfcui777@hotmail.com
Received: 2013-03-04 Revised: 2013-03-18
Accepted: 2013-03-29 Published online: 2013-05-18

Abstract

Pancreatic cancer is a highly malignant tumor that has a low resection rate. In Western countries, pancreatic cancer is the fourth cause of death in malignant tumors. Combined therapy is particularly important for the treatment of pancreatic cancer. Preoperative neoadjuvant therapy and postoperative adjuvant therapy are important parts of combined treatment for pancreatic cancer. Adjuvant therapy can improve survival and quality of life of patients with pancreatic cancer, and neoadjuvant therapy can reduce the primary lesion and lymph node metastasis, provide patients with the possibility of surgery to improve radical resection, decrease intraoperative bleeding and postoperative complications, and improve postoperative survival and life quality of patients. This article reviews the role of adjuvant therapy and neoadjuvant therapy in the management of pancreatic cancer.

■同行评议者
肖恩华, 教授, 中南大学湘雅二医院放射教研室

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Pancreatic cancer; Neoadjuvant therapy; Adjuvant therapy; Gemcitabine; 5-Fluorouracil; Folfirinox; Erlotinib

Huang P, Zhong XY, Xu Y, Cui YF. Role of neoadjuvant therapy and adjuvant therapy in treatment of pancreatic cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(14): 1292-1296
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1292.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i14.1292

摘要

胰腺癌是一种高度恶性的肿瘤. 在西方国家中, 胰腺癌是恶性肿瘤中的第4位死亡原因, 而且胰腺癌的手术切除率低. 所以胰腺癌的综合治疗显得尤为重要. 胰腺癌的术前的新辅助治疗与术后的辅助治疗是治疗胰腺癌的重要组成部分. 通过胰腺癌的辅助治疗, 可以提高胰腺癌患者的生存时间与生活质量. 而胰腺癌的新辅助治疗则可以降低胰腺癌临床病期缩小原发病灶及转移的淋巴结, 为无手术条件的患者提供手术的可能, 提高根治性手术的切除率. 减少术中出血和术后并发症. 提高患者的术后生存率与生活质量. 本文简要介绍了胰腺癌辅助治疗与新辅助治疗的方法.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 胰腺癌; 辅助治疗; 新辅助治疗; 吉西他滨; 5-氟尿嘧啶; Folfirinox方案; 埃罗替尼

核心提示: 对于胰腺癌来说, 任何单一手段对于胰腺癌的治疗效果都非常有限. 因此需要各个科室间的密切合作. 通过手术、辅助治疗及新辅助治疗等方法, 从根本上提高胰腺癌的治疗水平, 延长患者的生存期, 改善患者的生活质量.

黄鹏, 钟翔宇, 徐艺, 崔云甫. 辅助治疗与新辅助治疗在胰腺癌治疗中的作用. 世界华人消化杂志 2013; 21(14): 1292-1296
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1292.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i14.1292

0 引言

胰腺癌是一种高度恶性的肿瘤. 在西方国家中,

胰腺癌是恶性肿瘤中的第4位死亡原因[1], 而且患者的5年的生存率低于5%[1-3]. 胰腺癌缺乏特异的症状, 造成了胰腺癌早期诊断与治疗的困难[3,4]. 只有大约10%-20%的患者可早期行根治性手术[1,5], 而且胰腺癌的复发率高. 因此为提高患者的生存时间与生活质量, 胰腺癌的辅助与新辅助治疗显得尤为重要.

1 辅助治疗

为了提高手术后胰腺癌患者的生存时间与生活质量, 系统的放化疗与联合治疗是必不可少的.

1.1 化疗 最早进行胰腺癌术后辅助治疗的是胃肠肿瘤研究组, 他们用5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-Fu)联合放疗来治疗胰腺癌术后的患者, 通过双盲对比试验, 他们得出进行辅助治疗的患者的生存时间与生活质量均比未进行辅助治疗的患者有明显的提高[6].

5-Fu是最早用于进行胰腺癌辅助治疗的药物, 近几年的研究证明胰腺癌术后接受5-Fu治疗的患者, 中位生存时间是19.7 mo, 明显高于未接受治疗患者(14 mo), 而且有其统计学意义[7-11].

吉西他滨的发现被认为是胰腺癌治疗方面的一项重要发现. 吉西他滨在治疗胰腺癌, 尤其是针对已发生转移的胰腺癌患者, 其治疗效果优于5-Fu, 而且使用吉西他滨有较小的不良反应[12-14]. 一项III期临床试验已证明, 单独使用吉西他滨的患者的中位生存时间与1年的生存率均明显高于单独使用5-Fu的患者[15]. 近几年来, 以吉西他滨为主的联合治疗方案逐渐增多, 许多学者认为联合治疗可以提高胰腺癌患者的治疗效果[16-19]. 通过临床试验证明, 使用吉西他滨联合希罗达, 可以明显延长患者生存时间[20,21]. Cunningham等[21]、Herrmann等[20]通过临床试验与Meta分析的结果得出吉西他滨联合希罗达的方案是进展期胰腺癌患者的首选方案.

1.2 联合治疗 对于转移性胰腺癌的患者来说, Folfirinox方案(奥沙利铂+伊立替康+叶酸+氟尿嘧啶)为治疗的首选方案. 其治疗效果优于单用吉西他滨. 在2011年Conroy等[22]所做的临床对比试验证实了这一点. 他们选出342例晚期胰腺癌患者, 并随机分为两组, 一组给予Folfirinox方案进行治疗(奥沙利铂85 mg/m^2、伊立替康180 mg/m^2、叶酸400 mg/m^2、氟尿嘧啶400 mg/m^2, 2 wk/次), 另一组给予吉西他滨1000 mg/m^2, 1次/wk. 使用Folfirinox方案进行治疗的患者的中位生存时间是11.1 mo, 中位无进展生存期为6.4 mo, 而使用吉西他滨的患者的中位生存时间是6.8 mo, 中位无进展生存期为3.3 mo.

1.3 靶向治疗 基于胰腺癌的特殊的生物学行为, 许多研究小组已对胰腺癌的靶向治疗进行了研究. 常见的生物靶点有表皮生长因子受体[23,24]、人类表皮生长因子受体II型[25-29]、血管内皮生长因子[30-32]等. 这些因子在胰腺癌的发生与发展中起着相关作用.

对于表皮生长因子受体而言, 目前已被证明在治疗胰腺癌方面有疗效的是埃罗替尼. 2007年加拿大国家临床试验组运用埃罗替尼联合吉西他滨对569例晚期胰腺癌患者的随机双盲的III期临床试验表明, 埃罗替尼联合吉西他滨相对于安慰剂联合吉西他滨组能明显提高晚期胰腺癌患者的生存率, 不良反应发生率较低, 加拿大国家临床试验组给出的推荐剂量为100 mg/d[33].

2 新辅助治疗

新辅助治疗是指在恶性肿瘤局部实施手术前应用的全身性治疗. 目前鉴于乳腺癌和结直肠癌的新辅助治疗方面所取得了很好的效果, 使得胰腺外科医生对胰腺癌的新辅助治疗有很大的期望.

2.1 新辅助治疗的优势 胰腺癌新辅助治疗的优势有如下几点: (1)有效的术前化疗在减轻多种恶性肿瘤伴随症状的同时也减轻了患者的精神和心理上的不适反应; (2)降低临床(TNM)病期缩小原发病灶及转移的淋巴结, 为无手术条件的患者提供手术的可能, 提高根治性手术的切除率, 由于瘤体缩小可使手术范围相对缩小, 有利于手术中最大限度的保留正常组织; (3)新辅助化疗使手术时肿瘤细胞活力降低, 不易播散入血, 减少手术中转移, 术后并发症的发生, 有利于患者术后恢复; (4)及早预防远处转移的发生, 提高长期生存率; (5)新辅助化疗方案与术后化疗一样, 但效果优于术后化疗等[34-40].

2.2 新辅助治疗的方法 在早期胰腺癌新辅助研究中, Hoffman等[41]对34例患者进行了新辅助治疗. 患者术前先接受50.4 Gy放疗, 并且在放疗第2-5天和第29-32天给予静脉持续滴注5-Fu[1000 mg/(m^2 • d)]的治疗, 在放疗第2天加用丝裂霉素[10 mg/(m^2 • d)]. 新辅助治疗后34例患者中9例患者未接受手术治疗, 25名患者接受了剖腹探查术, 其中11例行根治性胰腺癌切除术切除(包括whipple术和胰体尾切除). 接受新辅助治疗与手术的患者的中位生存时间为45 mo(从明确诊断时算起), 中位无病存活时间为27 mo.

■创新盘点

本文综合阐述了胰腺癌的辅助治疗与新辅助治疗方法, 而非单一的介绍某种治疗方法, 可以指导临床医生对治疗方案的选择, 有助于拓宽临床医生的诊疗思路.

■应用要点
本文通过介绍不同药物(方案)在胰腺癌治疗方面所产生的作用, 使临床医生对胰腺癌的非手术治疗有了初步的认知.

Evans等[38]所用的以吉他西滨为主的治疗方案对胰腺癌有很好的疗效. 在他们所选取的86例患者中, 给予连续7 wk的吉他西滨静注(400 mg/m^2), 并且外加2 wk的放疗(30 Gy). 在进行完新辅助治疗4-6 wk后接受手术治疗. 86例患者中, 有64例接受了胰头十二指肠切除术. 86例患者的中位生存时间是22.7 mo, 5年生存率是27%. 其中接受胰头十二指肠切除术的64例患者的中位生存时间是34 mo, 5年生存率是36%.

Gillen等[42]于2010年做的一项Meta分析表明, 对于早期可切除肿瘤的胰腺癌患者来说, 新辅助治疗对其总体的治疗效果影响不大, 但对于那些早期不可切除肿瘤的胰腺癌患者来说, 其中的33.3%的患者可通过新辅助治疗后进行手术治疗, 而且其术后生存率与早期可切除肿瘤的胰腺癌患者相同, 所以对于早期不可切除肿瘤的胰腺癌患者来说, 新辅助治疗是很有必要的.

2.3 *新辅助治疗的展望* 目前来看, 新辅助治疗在胰腺癌的治疗中作用在日益提高, 并且确实大大改善了胰腺癌的预后效果. 并且对于中晚期患者提高生存时间和对生活质量的改善有很大的益处. 但是, 并非所有的胰腺癌患者都能从新辅助治疗中取得良好的治疗效果, 而且术前的辅助治疗有时会延误病情. 由于新辅助治疗可能诱导大量纤维组织增生, 造成对病情判断的失误、或者增加了手术的难度等的一系列问题. 这些问题亟待我们去解决[43].

3 结论

任何单一手段对于胰腺癌的治疗效果都非常有限. 因此需要各个科室间的密切合作. 通过手术、辅助治疗及新辅助治疗等方法, 从根本上提高胰腺癌的治疗水平, 延长患者的生存期, 改善患者的生活质量[44-48].

4 参考文献

1 Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2009. *CA Cancer J Clin* 2009; 59: 225-249 [PMID: 19474385 DOI: 10.3322/caac.20006]

2 Heinemann V, Boeck S, Hinke A, Labianca R, Louvet C. Meta-analysis of randomized trials: evaluation of benefit from gemcitabine-based combination chemotherapy applied in advanced pancreatic cancer. *BMC Cancer* 2008; 8: 82 [PMID: 18373843 DOI: 10.1186/1471-2407-8-82]

3 Sultana A, Tudur Smith C, Cunningham D, Starling N, Neoptolemos JP, Ghaneh P. Meta-analyses of chemotherapy for locally advanced and metastatic pancreatic cancer: results of secondary end points analyses. *Br J Cancer* 2008; 99: 6-13 [PMID: 18577990 DOI: 10.1038/sj.bjc.6604436]

4 Stathis A, Moore MJ. Advanced pancreatic carcinoma: current treatment and future challenges. *Nat Rev Clin Oncol* 2010; 7: 163-172 [PMID: 20101258 DOI: 10.1038/nrclinonc.2009.236]

5 Bilimoria KY, Bentrem DJ, Ko CY, Stewart AK, Winchester DP, Talamonti MS. National failure to operate on early stage pancreatic cancer. *Ann Surg* 2007; 246: 173-180 [PMID: 17667493 DOI: 10.1097/SLA.0b013e3180691579]

6 Kalser MH, Ellenberg SS. Pancreatic cancer. Adjuvant combined radiation and chemotherapy following curative resection. *Arch Surg* 1985; 120: 899-903 [PMID: 4015380 DOI: 10.1001/archsurg.1985.01390320023003]

7 Neoptolemos JP, Dunn JA, Stocken DD, Almond J, Link K, Beger H, Bassi C, Falconi M, Pederzoli P, Dervenis C, Fernandez-Cruz L, Lacaine F, Pap A, Spooner D, Kerr DJ, Friess H, Büchler MW. Adjuvant chemoradiotherapy and chemotherapy in resectable pancreatic cancer: a randomised controlled trial. *Lancet* 2001; 358: 1576-1585 [PMID: 11716884 DOI: 10.1016/S0140-6736(01)06651-X]

8 Neoptolemos JP, Stocken DD, Friess H, Bassi C, Dunn JA, Hickey H, Beger H, Fernandez-Cruz L, Dervenis C, Lacaine F, Falconi M, Pederzoli P, Pap A, Spooner D, Kerr DJ, Büchler MW. A randomized trial of chemoradiotherapy and chemotherapy after resection of pancreatic cancer. *N Engl J Med* 2004; 350: 1200-1210 [PMID: 15028824 DOI: 10.1056/NEJMoa032295]

9 Neoptolemos JP, Stocken DD, Tudur Smith C, Bassi C, Ghaneh P, Owen E, Moore M, Padbury R, Doi R, Smith D, Büchler MW. Adjuvant 5-fluorouracil and folinic acid vs observation for pancreatic cancer: composite data from the ESPAC-1 and -3(v1) trials. *Br J Cancer* 2009; 100: 246-250 [PMID: 19127260 DOI: 10.1038/sj.bjc.6604838]

10 Sultana A, Smith CT, Cunningham D, Starling N, Neoptolemos JP, Ghaneh P. Meta-analyses of chemotherapy for locally advanced and metastatic pancreatic cancer. *J Clin Oncol* 2007; 25: 2607-2615 [PMID: 17577041 DOI: 10.1200/JCO.2006.09.2551]

11 Cullinan SA, Moertel CG, Fleming TR, Rubin JR, Krook JE, Everson LK, Windschitl HE, Twito DI, Marschke RF, Foley JF. A comparison of three chemotherapeutic regimens in the treatment of advanced pancreatic and gastric carcinoma. Fluorouracil vs fluorouracil and doxorubicin vs fluorouracil, doxorubicin, and mitomycin. *JAMA* 1985; 253: 2061-2067 [PMID: 2579257 DOI: 10.1001/jama.1985.03350380077025]

12 Hertel LW, Boder GB, Kroin JS, Rinzel SM, Poore GA, Todd GC, Grindey GB. Evaluation of the antitumor activity of gemcitabine (2',2'-difluoro-2'-deoxycytidine). *Cancer Res* 1990; 50: 4417-4422 [PMID: 2364394]

13 Huang P, Chubb S, Hertel LW, Grindey GB, Plunkett W. Action of 2',2'-difluorodeoxycytidine on DNA synthesis. *Cancer Res* 1991; 51: 6110-6117 [PMID: 1718594]

14 Carmichael J, Fink U, Russell RC, Spittle MF, Harris AL, Spiessi G, Blatter J. Phase II study of gemcitabine in patients with advanced pancreatic cancer. *Br J Cancer* 1996; 73: 101-105 [PMID: 8554969 DOI: 10.1038/bjc.1996.18]

15 Burris HA, Moore MJ, Andersen J, Green MR, Rothenberg ML, Modiano MR, Cripps MC, Portenoy RK, Storniolo AM, Tarassoff P, Nelson

R, Dorr FA, Stephens CD, Von Hoff DD. Improvements in survival and clinical benefit with gemcitabine as first-line therapy for patients with advanced pancreas cancer: a randomized trial. *J Clin Oncol* 1997; 15: 2403-2413 [PMID: 9196156]
16 Berlin JD, Catalano P, Thomas JP, Kugler JW, Haller DG, Benson AB. Phase III study of gemcitabine in combination with fluorouracil versus gemcitabine alone in patients with advanced pancreatic carcinoma: Eastern Cooperative Oncology Group Trial E2297. *J Clin Oncol* 2002; 20: 3270-3275 [PMID: 12149301 DOI: 10.1200/JCO.2002.11.149]
17 Di Costanzo F, Carlini P, Doni L, Massidda B, Mattioli R, Iop A, Barletta E, Moscetti L, Recchia F, Tralongo P, Gasperoni S. Gemcitabine with or without continuous infusion 5-FU in advanced pancreatic cancer: a randomised phase II trial of the Italian oncology group for clinical research (GOIRC). *Br J Cancer* 2005; 93: 185-189 [PMID: 15986036 DOI: 10.1038/sj.bjc.6602640]
18 Heinemann V, Quietzsch D, Gieseler F, Gonnermann M, Schönekäs H, Rost A, Neuhaus H, Haag C, Clemens M, Heinrich B, Vehling-Kaiser U, Fuchs M, Fleckenstein D, Gesierich W, Uthgenannt D, Einsele H, Holstege A, Hinke A, Schalhorn A, Wilkowski R. Randomized phase III trial of gemcitabine plus cisplatin compared with gemcitabine alone in advanced pancreatic cancer. *J Clin Oncol* 2006; 24: 3946-3952 [PMID: 16921047 DOI: 10.1200/JCO.2005.05.1490]
19 Jacobs AD, Otero H, Picozzi VJ, Aboulafia DM. Gemcitabine combined with docetaxel for the treatment of unresectable pancreatic carcinoma. *Cancer Invest* 2004; 22: 505-514 [PMID: 15565807 DOI: 10.1081/CNV-200026392]
20 Herrmann R, Bodoky G, Ruhstaller T, Glimelius B, Bajetta E, Schüller J, Saletti P, Bauer J, Figer A, Pestalozzi B, Köhne CH, Mingrone W, Stemmer SM, Tàmas K, Kornek GV, Koeberle D, Cina S, Bernhard J, Dietrich D, Scheithauer W. Gemcitabine plus capecitabine compared with gemcitabine alone in advanced pancreatic cancer: a randomized, multicenter, phase III trial of the Swiss Group for Clinical Cancer Research and the Central European Cooperative Oncology Group. *J Clin Oncol* 2007; 25: 2212-2217 [PMID: 17538165 DOI: 10.1200/JCO.2006.09.0886]
21 Cunningham D, Chau I, Stocken DD, Valle JW, Smith D, Steward W, Harper PG, Dunn J, Tudur-Smith C, West J, Falk S, Crellin A, Adab F, Thompson J, Leonard P, Ostrowski J, Eatock M, Scheithauer W, Herrmann R, Neoptolemos JP. Phase III randomized comparison of gemcitabine versus gemcitabine plus capecitabine in patients with advanced pancreatic cancer. *J Clin Oncol* 2009; 27: 5513-5518 [PMID: 19858379 DOI: 10.1200/JCO.2009.24.2446]
22 Conroy T, Desseigne F, Ychou M, Bouché O, Guimbaud R, Bécouarn Y, Adenis A, Raoul JL, Gourgou-Bourgade S, de la Fouchardière C, Bennouna J, Bachet JB, Khemissa-Akouz F, Péré-Vergé D, Delbaldo C, Assenat E, Chauffert B, Michel P, Montoto-Grillot C, Ducreux M. FOLFIRINOX versus gemcitabine for metastatic pancreatic cancer. *N Engl J Med* 2011; 364: 1817-1825 [PMID: 21561347 DOI: 10.1056/NEJMoa1011923]
23 Kullmann F, Hollerbach S, Dollinger MM, Harder J, Fuchs M, Messmann H, Trojan J, Gäbele E, Hinke A, Hollerbach C, Endlicher E. Cetuximab plus gemcitabine/oxaliplatin (GEMOXCET) in first-line metastatic pancreatic cancer: a multicentre phase II study. *Br J Cancer* 2009; 100: 1032-1036 [PMID: 19293797 DOI: 10.1038/sj.bjc.6604983]
24 Philip PA. Improving treatment of pancreatic cancer. *Lancet Oncol* 2008; 9: 7-8 [PMID: 18177814 DOI: 10.1016/S1470-2045(07)70391-1]
25 Novotný J, Petruzelka L, Vedralová J, Kleibl Z, Matous B, Juda L. Prognostic significance of c-erbB-2 gene expression in pancreatic cancer patients. *Neoplasma* 2001; 48: 188-191 [PMID: 11583287]
26 Safran H, Steinhoff M, Mangray S, Rathore R, King TC, Chai L, Berzein K, Moore T, Iannitti D, Reiss P, Pasquariello T, Akerman P, Quirk D, Mass R, Goldstein L, Tantravahi U. Overexpression of the HER-2/neu oncogene in pancreatic adenocarcinoma. *Am J Clin Oncol* 2001; 24: 496-499 [PMID: 11586103 DOI: 10.1097/00000421-200110000-00016]
27 Stoecklein NH, Luebke AM, Erbersdobler A, Knoefel WT, Schraut W, Verde PE, Stern F, Scheunemann P, Peiper M, Eisenberger CF, Izbicki JR, Klein CA, Hosch SB. Copy number of chromosome 17 but not HER2 amplification predicts clinical outcome of patients with pancreatic ductal adenocarcinoma. *J Clin Oncol* 2004; 22: 4737-4745 [PMID: 15570074 DOI: 10.1200/JCO.2004.05.142]
28 Saeki H, Yanoma S, Takemiya S, Sugimasa Y, Akaike M, Yukawa N, Rino Y, Imada T. Antitumor activity of a combination of trastuzumab (Herceptin) and oral fluoropyrimidine S-1 on human epidermal growth factor receptor 2-overexpressing pancreatic cancer. *Oncol Rep* 2007; 18: 433-439 [PMID: 17611667]
29 Safran H, Iannitti D, Ramanathan R, Schwartz JD, Steinhoff M, Nauman C, Hesketh P, Rathore R, Wolff R, Tantravahi U, Hughes TM, Maia C, Pasquariello T, Goldstein L, King T, Tsai JY, Kennedy T. Herceptin and gemcitabine for metastatic pancreatic cancers that overexpress HER-2/neu. *Cancer Invest* 2004; 22: 706-712 [PMID: 15581051 DOI: 10.1081/CNV-200032974]
30 Ko AH, Youssoufian H, Gurtler J, Dicke K, Kayaleh O, Lenz HJ, Keaton M, Katz T, Ballal S, Rowinsky EK. A phase II randomized study of cetuximab and bevacizumab alone or in combination with gemcitabine as first-line therapy for metastatic pancreatic adenocarcinoma. *Invest New Drugs* 2012; 30: 1597-1606 [PMID: 21629990 DOI: 10.1007/s10637-011-9691-8]
31 Kindler HL, Ioka T, Richel DJ, Bennouna J, Létourneau R, Okusaka T, Funakoshi A, Furuse J, Park YS, Ohkawa S, Springett GM, Wasan HS, Trask PC, Bycott P, Ricart AD, Kim S, Van Cutsem E. Axitinib plus gemcitabine versus placebo plus gemcitabine in patients with advanced pancreatic adenocarcinoma: a double-blind randomised phase 3 study. *Lancet Oncol* 2011; 12: 256-262 [PMID: 21306953 DOI: 10.1016/S1470-2045(11)70004-3]
32 Spano JP, Chodkiewicz C, Maurel J, Wong R, Wasan H, Barone C, Létourneau R, Bajetta E, Pithavala Y, Bycott P, Trask P, Liau K, Ricart AD, Kim S, Rixe O. Efficacy of gemcitabine plus axitinib compared with gemcitabine alone in patients with advanced pancreatic cancer: an open-label randomised phase II study. *Lancet* 2008; 371: 2101-2108 [PMID: 18514303 DOI: 10.1016/S0140-6736(08)60661-3]
33 Moore MJ, Goldstein D, Hamm J, Figer A, Hecht JR, Gallinger S, Au HJ, Murawa P, Walde D, Wolff RA,

■同行评价
本文综述了辅助治疗与新辅助治疗在胰腺癌综合治疗中的作用, 对临床应用有一定参考价值.

Campos D, Lim R, Ding K, Clark G, Voskoglou-Nomikos T, Ptasynski M, Parulekar W. Erlotinib plus gemcitabine compared with gemcitabine alone in patients with advanced pancreatic cancer: a phase III trial of the National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. *J Clin Oncol* 2007; 25: 1960-1966 [PMID: 17452677 DOI: 10.1200/JCO.2006.07.9525]

34 Evans DB, Rich TA, Byrd DR, Cleary KR, Connelly JH, Levin B, Charnsangavej C, Fenoglio CJ, Ames FC. Preoperative chemoradiation and pancreaticoduodenectomy for adenocarcinoma of the pancreas. *Arch Surg* 1992; 127: 1335-1339 [PMID: 1359851 DOI: 10.1001/archsurg.1992.01420110083017]

35 Jessup JM, Steele G, Mayer RJ, Posner M, Busse P, Cady B, Stone M, Jenkins R, Osteen R. Neoadjuvant therapy for unresectable pancreatic adenocarcinoma. *Arch Surg* 1993; 128: 559-564 [PMID: 8098206 DOI: 10.1001/archsurg.1993.01420170093014]

36 Moutardier V, Magnin V, Turrini O, Viret F, Hennekinne-Mucci S, Gonçalves A, Pesenti C, Guiramand J, Lelong B, Giovannini M, Monges G, Houvenaeghel G, Delpero JR. Assessment of pathologic response after preoperative chemoradiotherapy and surgery in pancreatic adenocarcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2004; 60: 437-443 [PMID: 15380577 DOI: 10.1016/j.ijrobp.2004.04.004]

37 Pisters PW, Hudec WA, Lee JE, Raijman I, Lahoti S, Janjan NA, Rich TA, Crane CH, Lenzi R, Wolff RA, Abbruzzese JL, Evans DB. Preoperative chemoradiation for patients with pancreatic cancer: toxicity of endobiliary stents. *J Clin Oncol* 2000; 18: 860-867 [PMID: 10673529]

38 Evans DB, Varadhachary GR, Crane CH, Sun CC, Lee JE, Pisters PW, Vauthey JN, Wang H, Cleary KR, Staerkel GA, Charnsangavej C, Lano EA, Ho L, Lenzi R, Abbruzzese JL, Wolff RA. Preoperative gemcitabine-based chemoradiation for patients with resectable adenocarcinoma of the pancreatic head. *J Clin Oncol* 2008; 26: 3496-3502 [PMID: 18640930 DOI: 10.1200/JCO.2007.15.8634]

39 Varadhachary GR, Wolff RA, Crane CH, Sun CC, Lee JE, Pisters PW, Vauthey JN, Abdalla E, Wang H, Staerkel GA, Lee JH, Ross WA, Tamm EP, Bhosale PR, Krishnan S, Das P, Ho L, Xiong H, Abbruzzese JL, Evans DB. Preoperative gemcitabine and cisplatin followed by gemcitabine-based chemoradiation for resectable adenocarcinoma of the pancreatic head. *J Clin Oncol* 2008; 26: 3487-3495 [PMID: 18640929 DOI: 10.1200/JCO.2007.15.8642]

40 Palmer DH, Stocken DD, Hewitt H, Markham CE, Hassan AB, Johnson PJ, Buckels JA, Bramhall SR. A randomized phase 2 trial of neoadjuvant chemotherapy in resectable pancreatic cancer: gemcitabine alone versus gemcitabine combined with cisplatin. *Ann Surg Oncol* 2007; 14: 2088-2096 [PMID: 17453298 DOI: 10.1245/s10434-007-9384-x]

41 Hoffman JP, Weese JL, Solin LJ, Engstrom P, Agarwal P, Barber LW, Guttmann MC, Litwin S, Salazar H, Eisenberg BL. A pilot study of preoperative chemoradiation for patients with localized adenocarcinoma of the pancreas. *Am J Surg* 1995; 169: 71-77; discussion 77-78 [PMID: 7818001 DOI: 10.1016/S0002-9610(99)80112-3]

42 Gillen S, Schuster T, Meyer Zum Büschenfelde C, Friess H, Kleeff J. Preoperative/neoadjuvant therapy in pancreatic cancer: a systematic review and meta-analysis of response and resection percentages. *PLoS Med* 2010; 7: e1000267 [PMID: 20422030 DOI: 10.1371/journal]

43 赵玉沛, 徐徕, 丛林. 胰腺癌新辅助治疗的现状与展望. 中华普外科手术学杂志(电子版) 2011; 5: 1-6

44 Greer JB, Brand RE. New developments in pancreatic cancer. *Curr Gastroenterol Rep* 2011; 13: 131-139 [PMID: 21258973 DOI: 10.1007/s11894-011-0175-y]

45 Pisters PW, Wolff RA, Janjan NA, Cleary KR, Charnsangavej C, Crane CN, Lenzi R, Vauthey JN, Lee JE, Abbruzzese JL, Evans DB. Preoperative paclitaxel and concurrent rapid-fractionation radiation for resectable pancreatic adenocarcinoma: toxicities, histologic response rates, and event-free outcome. *J Clin Oncol* 2002; 20: 2537-2544 [PMID: 12011133 DOI: 10.1200/JCO.2002.11.064]

46 Pisters PW, Hudec WA, Hess KR, Lee JE, Vauthey JN, Lahoti S, Raijman I, Evans DB. Effect of preoperative biliary decompression on pancreaticoduodenectomy-associated morbidity in 300 consecutive patients. *Ann Surg* 2001; 234: 47-55 [PMID: 11420482 DOI: 10.1097/00000658-200107000-00008]

47 Mullen JT, Lee JH, Gomez HF, Ross WA, Fukami N, Wolff RA, Abdalla EK, Vauthey JN, Lee JE, Pisters PW, Evans DB. Pancreaticoduodenectomy after placement of endobiliary metal stents. *J Gastrointest Surg* 2005; 9: 1094-1094; discussion 1104-1105 [PMID: 16269380]

48 赵玉沛, 戴梦华. 胰腺癌的免疫治疗. 中国实用外科杂志 2001; 21: 525-526

编辑 田滢 电编 闫晋利

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2013年5月18日; 21(14): 1297-1302
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

结直肠癌NCCN、NICE指南及中国卫生部诊疗规范的比较

何振华, 张 森

何振华, 张森, 广西医科大学第一附属医院结直肠肛门外科 广西壮族自治区南宁市 530021
何振华, 主要从事结直肠肿瘤的研究.
作者贡献分布: 本文综述由何振华完成; 张森负责审校.
通讯作者: 张森, 教授, 主任医师, 博士生导师, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路6号, 广西医科大学第一附属医院结直肠肛门外科. zs0771@hotmail.com
电话: 0771-5356529
收稿日期: 2013-03-11 修回日期: 2013-04-07
接受日期: 2013-04-12 在线出版日期: 2013-05-18

Comparison of NCCN, NICE and Chinese Ministry of Health guidelines for diagnosis and treatment of colorectal cancer

Zhen-Hua He, Sen Zhang

Zhen-Hua He, Sen Zhang, Department of Colorectal and Anal Surgery, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Correspondence to: Sen Zhang, Professor, Chief Physician, Department of Colorectal and Anal Surgery, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 6 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. zs0771@hotmail.com
Received: 2013-03-11 Revised: 2013-04-07
Accepted: 2013-04-12 Published online: 2013-05-18

Abstract
Colorectal cancer (CRC) is one of the most common gastrointestinal malignancies in China. With the increasing in the incidence of CRC in recent years, standardization of the diagnosis and treatment of CRC has attracted more and more attention from clinicians. Over the past years, although clinicians in China mainly refer to the NCCN guideline, the NICE guideline also attracts wide attention. In addition, the Chinese Ministry of Health guideline for the diagnosis and treatment of CRC was issued on October, 2010. In this paper, we will compare and interpret the above three guidelines.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Colorectal cancer; Guidelines; Comparison

He ZH, Zhang S. Comparison of NCCN, NICE and Chinese Ministry of Health guidelines for diagnosis and treatment of colorectal cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(14): 1297-1302 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1297.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i14.1297

摘要
结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是我国常见消化系恶性肿瘤之一, 近年来其发病率的不断增加, 如何规范CRC的临床诊疗行为, 已越来越受到临床医师的关注. 长期以来, 我国医师多参考美国国立综合癌症网络(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)发布的诊治指南. 英国的结直肠癌英国国家卫生与临床研究所(National Institute for Health and Clinical Excellence, NICE)指南也越来越受到人们的关注. 2010年10月我国卫生部颁布了结直肠癌诊疗规范即《结直肠癌诊疗规范》. 本文从以下几方面对上述指南及规范进行比较和解读.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 结直肠癌; 诊治指南; 比较

核心提示: 卫生部根据我国具体国情制定了结直肠癌(colorectal cancer, CRC)诊疗规范, 符合我国CRC疾病谱的诊治特点. 因此, 临床医师要在参照指南规范的基础上, 根据患者的实际情况来选择合适的治疗方案, 使广大CRC患者从指南规范治疗中获益, 促进我国CRC治疗走向规范化、科学化.

何振华, 张森. 结直肠癌NCCN、NICE指南及中国卫生部诊疗规范的比较. 世界华人消化杂志 2013; 21(14): 1297-1302
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1297.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i14.1297

0 引言
结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是最常见的恶性肿瘤之一, 据估计2012年美国CRC新增病例将达143460例, 而死亡人数估计在51690例[1,2]. 近年来, 随着人民生活水平的不断提高, 饮食习惯和饮食结构的改变以及人口的老龄化, 我国

■背景资料
2010年我国卫生部颁布首部肿瘤治疗方面的诊疗规范, 长期以来国内医师多参考美国国立综合癌症网络(national comprehensive cancer network, NCCN)指南. 而英国国家卫生与临床研究所(national institute of clinical excellence, NICE)指南也越来越受到人们的关注. 本文对上述指南及规范进行比较和解读.

■同行评议者
郝立强, 副教授, 上海长海医院普外二科

■研发前沿
我国结直肠癌(colorectal cancer, CRC)诊疗规范的颁布充分考虑到了我国结直肠专科医师的需求和国内CRC的诊疗现状, 并具有部分法律法规效应, 而国外NCCN、NICE指南则侧重于技术层面的建议. 但关于三者的系统比较未见报道.

CRC的发病率和死亡率均保持上升趋势[3-5], 其中, 结肠癌发病率的上升尤为显著, 大多数患者发现时已属中晚期[6,7]. 为进一步规范我国CRC的诊疗行为, 提高医疗机构诊疗水平, 改善患者预后, 保障医疗质量和医疗安全, 2010年我国卫生部特制定了《结直肠癌诊疗规范》[8](以下简称规范). 我国与西方人在人种特点、医疗体制等方面存在差异. 为此, 我们在临床诊疗中以卫生部CRC诊疗规范为蓝本, 参照美国国立综合癌症网络(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)指南的进展开展工作. 但正如指南制定的工作会议及国内同道的交流中发现的一样, 临床实践工作有其复杂的一面, 因而, 在某些诊疗细节中仍值得商榷. 该规范和国外指南如NCCN、英国国家卫生与临床研究所(National Institute for Health and Clinical Excellence, NICE)指南的区别在于, 本规范充分考虑到了我国结直肠专科医师的需求和CRC的诊疗现状, 并在未来的临床诊疗中具有部分法律法规效应, 而NCCN、NICE指南则侧重于技术层面的建议. 那么, 这3个临床实践指南在CRC的诊治方面都有哪些异同点呢? 我们认真比较发现, 主要有如下几个方面.

1 肠梗阻

对于肠梗阻, 国内主要通过腹部立卧位X片检查结合其他血象、体格检查等, 一经确诊予以急诊手术治疗[9,10]. NICE指南[11]指出, 如果怀疑有CRC并急性肠梗阻的患者, 首选胸部、腹部及盆部CT检查以明确机械性梗阻的诊断, 并确定患者是否有转移性疾病或结肠穿孔. NICE指南还强调结肠支架在癌性梗阻患者的应用, 一经确认梗阻在左半结肠, 指南建议在24 h内置入支架, 但不建议在其他部位行结肠支架置入, 而NCCN指南[12]只是提及简单的治疗方案. 对于可手术的患者, 放置结肠支架避免急症手术, 为择期手术做好肠道准备[13,14], 但结肠支架的临床应用仍然存在一些问题, 如支架类型的选择、患者的治疗指征、是否导致肿瘤的转移及长期效果的随访观察等[15-17]. 由于我国CRC晚期病例较多, 因癌性肠梗阻急诊入院的患者相对国外较多, 因此卫生部对肠梗阻诊治方面较符合我国国情.

2 腹腔镜

随着腹腔镜的发展, 腹腔镜在CRC手术的应用越来越广泛[18]. 与传统开腹手术相比, 腹腔镜手术具有创伤小、术后恢复快等优势[19-21], 但3个指南对腹腔镜的推荐不尽相同. 国内卫生部规范推荐除了原发灶在横结肠的CRC应用腹腔镜手术治疗. NICE指南[22]亦明确推荐, 将腹腔镜或腹腔镜辅助手术作为CRC可选的手术方案. 而NCCN指南[12]指出由经验丰富的外科医生实施的腹腔镜辅助结肠癌手术已被纳入结肠癌手术方式, 但腹腔镜直肠癌手术仅限于临床研究. 基于COST研究[23], 2005年美国结直肠外科医师协会与胃肠道内镜外科医师协会发表联合声明: 对于可以治愈的结肠癌, 由有经验的外科医生完成的腹腔镜结肠切除术. 到了2006年, NCCN结肠癌指南[24]发布推荐腹腔镜手术可以用于可以治愈结肠癌的治疗. 但是由于缺少相关证据的支持, 对于腹腔镜直肠癌手术, NCCN指南推荐仅限于临床试验. 至今日, 由于腹腔镜与开放直肠癌手术远期疗效的对比研究结果尚未出炉, 2012年NCCN指南[12]对腹腔镜直肠癌手术推荐仍未改变. 为何3个指南推荐不一样? 这可能与欧美结直肠疾病谱中, 中低位直肠癌比例较低有关[25,26]. 但是, 由于腹腔镜还存在探查不充分、学习曲线较长等原因, 腹腔镜的推广仍需进一步加强相关培训和规范.

3 术前放化疗

对于直肠癌术前放化疗治疗, 首先, 关于新辅助放化疗至手术间隔时间. 卫生部规范推荐新辅助(术前)放化疗后推荐间隔4-8 wk进行手术. NCCN指南指出5 wk半足量的新辅助放化疗后, 应在5-10 wk内进行手术. 而NICE指南未明确提及. 对于这个问题目前还未有统一的标准[27,28]. 出现不同的时间推荐可能是由于各国的研究基于本国国情和诊疗水平决定, 而卫生部诊疗规范的推荐更适合我国CRC患者人群特点.

2012年的NCCN指南指出对于T3N0的上段直肠癌, 若切缘阴性、无不良预后因素者, 放疗的额外效果有限, 可考虑予单纯化疗, 而针对Ⅱ期(T≥3)、Ⅲ期(N≥1)病例明确提出选择同步术前新辅助放化疗, 推荐以氟尿嘧啶为基础的化疗与放射治疗同期联用, 除非患者发生出血、梗阻等并发症或者存在新辅助治疗的禁忌证, 否则均不应首选手术治疗.

卫生部规范指出, 对于术前分期为T3和/或N+局部可切除的直肠癌, 则推荐使用新辅助放化疗. 而对于术前分期为T4或局部晚期不可切除的直肠癌, 则必须行新辅助放化疗. 与美国NCCN指南相比, 该规范考虑到中国各级医疗单

表 1 通过MRI预测直肠肿瘤局部复发的风险

局部复发风险度	通过MRI预测直肠癌的参数
高危	危险(<1 mm)或破损切缘或 低位肿瘤侵犯内括约肌以上或包括肛提肌
中危	任何cT3b或更深, 潜在手术切缘无危险或 任何怀疑淋巴结但无危险手术切缘或 出现血管外浸润[1]
低危	cT1或cT2 或cT3a和 无淋巴结转移

[1]这些因素与全身复发高风险相关. MRI: 磁共振成像.

■相关报道
在CRC诊疗规范未颁布前, 国内临床上多以NCCN指南为蓝本. 2011年胡跃等对CRC NCCN指南和卫生部诊疗规范进行简单比较, 但并未加入NICE指南的比较.

位对术前放疗的接受程度存在差异, 对于局部可切除的病灶并不强制行新辅助放疗; 但对于术前分期为T4、侵犯盆腔脏器、盆壁的直肠癌, 为避免盲目进行姑息性切除, 故在规范中将新辅助放化疗作为必要治疗. 如有梗阻、出血等急症情况, 则是实施新辅助放化疗的相对禁忌. 由于我国各地社会经济状况的差异, 加上外科医生的观念等因素, 术前新辅助治疗在我国尚未能普遍开展[29].

在NICE指南中, 提到了短程术前放疗(short-course preoperative radiotherapy, SCPRT), 他是一种术前短程高剂量放疗的治疗方法(一般为5 d)[30-32]. 该指南根据局部复发的风险定义了3种不同的直肠癌患者高危人群, 如表1(摘译[11]). NICE指南推荐, 对于可切除的直肠癌, 术前通过磁共振成像评估局部复发风险, 风险度不同的人群其术前的治疗方案不一样, 但均须通过多学科组织(muti-discipline team, MDT)讨论患者的局部复发、短期和长期复风险和远期效果. 除非是临床试验, 否则对于低风险的可切除直肠癌, 建议不予SCPRT或放化疗. 对于中等风险的可切除直肠癌, 可考虑给予短期术前放疗然后立即手术治疗; 对那些介于中、高危复发风险的患者可考虑给予术前放化疗后, 待肿瘤缩小后再行手术治疗. 对于高风险的可切除直肠癌患者, 应给予术前放化疗(不是SCPRT), 待肿瘤缩小后再行外科手术治疗. 对于局部晚期的直肠癌, MDT讨论直肠癌患者的局部复发率和后期的危害性. 对于高风险局部晚期直肠癌术前放化疗后应给予一段时间间隔期, 待肿瘤缩小. 直肠癌患者不应为了有利于行保肛手术而单独行放化疗. 不要常规的给予局部晚期CRC患者单独术前放化疗, 除非是临床试验.

因此, 我们认为新辅助治疗适应证的选择及疗效评判应依据医学影像+病理学检查为基础. 新辅助治疗后的TNM分期误判会导致辅助治疗的决策错误. 所以, 强调“诊断优先, 诊断方法规范”应贯穿临床实践始终. 直肠癌的新辅助治疗的目的在于提高手术切除率和保肛率以及延长患者的生存期[33]. 随着卫生部对规范的推广和对临床医师的培训, 相信我国CRC新辅助治疗逐步走向规范化.

4 Ⅱ期结直肠癌的辅助化疗

对于Ⅱ期CRC, 哪些患者需要辅助化疗, 3个指南基本相似. 存在如下的高危因素, 建议予以辅助化疗. NCCN指南: 病理分级3-4[除外高度微卫星不稳定(high frequency microsatellite instability, MSI-H)样肿瘤], 越来越多研究显示[34-36], 错配修复蛋白缺失(defective DNA mismatch repair, dMMR)或MSI-H的Ⅱ期CRC患者预后较好且不能从5-氟尿嘧啶单药辅助化疗中获益甚至有害. 淋巴管/血管侵犯, 肠梗阻, 送检淋巴结<12枚, 神经侵犯, 局限肠穿孔或接近, 切缘阳性或不确定. 卫生部规范: 组织学分化差(Ⅲ或Ⅳ级)、T4、血管/淋巴管浸润、术前肠梗阻/肠穿孔、标本检出淋巴结不足(少于12枚). NICE指南[37]: 管壁外侵犯, pT4(浆膜侵犯或穿孔), 低分化, 肿瘤梗阻, 神经周围浸润和术后标本获取淋巴结少.

5 西妥昔单抗(爱必妥)治疗转移性结直肠癌

NCCN指南在2009年第二版[38]更新时首次将FOLFOX/XELOX联合西妥昔单抗推荐用于mCRC的一线治疗, 而在2012年第一版则删除了FOLFOX联合西妥昔单抗方案用于mCRC治疗. 可能原因是该方案用于mCRC治疗未见疗效提高, 且毒性增加(主要是来自于COIN和NORDIC Ⅶ这两项研究的结果[39,40]). 卫生部规范对于转

■创新盘点
本文首次系统的比较了NCCN, NICE指南和卫生部诊疗规范的不同, 阐述了各自的特点, 对临床工作具有一定的指导意义.

移性CRC患者推荐以下化疗方案: FOLFOX/FOLFIRI/CapeOx±西妥昔单抗(推荐用于*K-ras*基因野生型患者)或贝伐珠单抗, 而西妥昔单抗是NICE指南[41,42]唯一推荐的用于一线治疗mCRC的靶向药物, 推荐其联合FOLFOX或者FOLFIRI一线治疗晚期CRC. 随着分子生物技术的不断进步, *K-ras*基因检测对于mCRC治疗的选择具有重要的意义, 也是实现CRC个体化治疗的开始[43,44]. 这3个指南均推荐在行西妥昔单抗治疗前常规检测*K-ras*基因状态. 虽然mCRC靶向治疗处在一个相对比较早的时期, 并且其治疗获益是初步的, 但其价值是非常大的[45,46]. 对于那些可切除或潜在可切除的转移性CRC患者, 联合靶向治疗是为了能提高可切除率和延长生存期[47], 而对于大部分无法手术切除的mCRC患者, 治疗的主要目标是延长生存, 并维持生活质量. 针对患者个体化的情况, 合理选择合适的靶向药物, 使患者获得最大的生存获益. 需要考虑如下几个因素: 适合的联合化疗方案, 生物标志物的检测, 安全性[48-50], 但是, 由于我国经济状况等原因, 我国许多医院还未开展相关基因的检测, 且大部分患者对于靶向治疗仍然难以承担.

6 术后肠功能的变化

对于CRC的治疗, 往往会导致肠功能的变化[25]. 卫生部规范中强调了肠造口康复护理治疗、心理支持等CRC治疗中的相关内容, 力图使规范尽可能地适应目前的自然-社会-心理医学模式. NICE指南认为关键的问题是, 对于患者而言, 与排便功能相关的信息需求有哪些? 指南推荐在治疗前给患者提供所有有关的信息, 包括所有可供选择的治疗方案以及这些方案潜在的效益和风险, 肠造口的可能性, 术后排便功能的影响如大便失禁、腹泻、肠排空困难、腹胀等及如何处理和寻求帮助. 而NCCN指南未提及这方面的内容.

7 随访

3个指南对于术后随访观察的管理无明显差异, 但卫生部规范有些不同. 如增加腹/盆部B超检查, 可能是B超方便快捷, 价格低廉, 易于推广, 且腹部B超是排除肝转移的较好选择. 实验室检查方面, 除了相关肿瘤标志物癌胚抗原外, 规范还推荐复查癌抗原(CA19-9). 因此, 规范的推荐正是考虑到了我国的医疗水平和国民的经济情况. 但与国外的随访体制相比, 我国在CRC随诊方面还存在许多问题, 因此, 我们认为仍然需要进一步完善这方面相关制度.

8 结论

近年来, 随着国外指南的推广和卫生部诊疗规范的颁布, CRC规范化治疗的理念已被越来越多的临床医师所接受. 各国的指南是根据本国、地区的实际情况制定, 他们大体相同, 但仍存在差异, 可能与各国国情、人种以及诊治方法等有关. 由于我国各地发展水平的差异, 部分地区的CRC诊疗仍存在不足. 此外, 临床工作中患者的情况也是多变的, 指南规范无法覆盖全部的临床情况. 卫生部根据我国具体国情制定了CRC诊疗规范, 符合我国CRC疾病谱的诊治特点. 因此, 临床医师要在参照指南规范的基础上, 根据患者的实际情况来选择合适的治疗方案, 使广大CRC患者从指南规范治疗中获益, 促进我国CRC治疗走向规范化、科学化.

9 参考文献

1 Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2012; 62: 10-29 [PMID: 22237781 DOI: 10.3322/caac.20138]
2 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107caac.20107]
3 汪建平. 中国结直肠癌治疗现状–进步与局限并存. 中华胃肠外科杂志 2012; 15: 989-992
4 郑树. 结直肠肿瘤(基础研究与临床实践). 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 3-14
5 Yang L, Parkin DM, Li L, Chen Y. Time trends in cancer mortality in China: 1987-1999. *Int J Cancer* 2003; 106: 771-783 [PMID: 12866039]
6 谢正勇, 卿三华. 结直肠癌发病率及解剖部位变化趋势. 世界华人消化杂志 2003; 11: 1050-1053
7 李明, 顾晋. 中国结直肠癌20年来发病模式的变化趋势. 中华胃肠外科杂志 2004; 7: 214-217
8 卫生部医政司, 结直肠癌诊疗规范专家工作组. 结直肠癌诊疗规范(2010年版). 中华胃肠外科杂志 2010; 13: 865-875
9 汪建平. 大肠癌并急性结肠梗阻的处理. 中国实用外科杂志 2000; 20: 459-461
10 徐新林, 陈培颜. 大肠癌致急性肠梗阻的诊断和治疗. 腹部外科 2009; 22: 43-44
11 National Institute for Health and Clinical Excellence. Colorectal cancer: the diagnosis and management of colorectal cancer. (Clinical guideline 131) 2011. Available from: http: //www.nice.org.uk/CG131
12 National Comprehensive Cancer Network. NCCN Guidelines for Colon and Rectal Cancer. Version 1 2012. Available from: http: //www.nccn.org
13 Mucci-Hennekinne S, Kervegant AG, Regenet N, Beaulieu A, Barbieux JP, Dehni N, Casa C, Arnaud JP. Management of acute malignant large-bowel obstruction with self-expanding metal stent. *Surg Endosc* 2007; 21: 1101-1103 [PMID: 17356934 DOI: 10.1007/s00464-007-9258-0]
14 徐琨, 张宏, 冯勇, 丛进春, 陈春生, 刘恩卿. 梗阻性左

半结直肠癌术前支架减压与急诊手术248例. 世界华人消化杂志 2010; 18: 736-740
15 Watt AM, Faragher IG, Griffin TT, Rieger NA, Maddern GJ. Self-expanding metallic stents for relieving malignant colorectal obstruction: a systematic review. *Ann Surg* 2007; 246: 24-30 [PMID: 17592286 DOI: 10.1097/01.sla.0000261124.72687.7200000658-200707000-00005]
16 Zhang Y, Shi J, Shi B, Song CY, Xie WF, Chen YX. Self-expanding metallic stent as a bridge to surgery versus emergency surgery for obstructive colorectal cancer: a meta-analysis. *Surg Endosc* 2012; 26: 110-119 [PMID: 21789642 DOI: 10.1007/s00464-011-1835-6]
17 Repici A, Adler DG, Gibbs CM, Malesci A, Preatoni P, Baron TH. Stenting of the proximal colon in patients with malignant large bowel obstruction: techniques and outcomes. *Gastrointest Endosc* 2007; 66: 940-944 [PMID: 17963881 DOI: 10.1016/j.gie.2007.04.032]
18 Lacy AM, Delgado S, Castells A, Prins HA, Arroyo V, Ibarzabal A, Pique JM. The long-term results of a randomized clinical trial of laparoscopy-assisted versus open surgery for colon cancer. *Ann Surg* 2008; 248: 1-7 [PMID: 18580199 DOI: 10.1097/SLA.0b013e31816a9d65]
19 Buunen M, Veldkamp R, Hop WC, Kuhry E, Jeekel J, Haglind E, Påhlman L, Cuesta MA, Msika S, Morino M, Lacy A, Bonjer HJ. Survival after laparoscopic surgery versus open surgery for colon cancer: long-term outcome of a randomised clinical trial. *Lancet Oncol* 2009; 10: 44-52 [PMID: 19071061 DOI: 10.1016/S1470-2045(08)70310-3S1470-2045(08)70310-3]
20 Guillou PJ, Quirke P, Thorpe H, Walker J, Jayne DG, Smith AM, Heath RM, Brown JM. Short-term endpoints of conventional versus laparoscopic-assisted surgery in patients with colorectal cancer (MRC CLASICC trial): multicentre, randomised controlled trial. *Lancet* 2005; 365: 1718-1726 [PMID: 15894098 DOI: S0140-6736(05)66545-2]
21 Hewett PJ, Allardyce RA, Bagshaw PF, Frampton CM, Frizelle FA, Rieger NA, Smith JS, Solomon MJ, Stephens JH, Stevenson AR. Short-term outcomes of the Australasian randomized clinical study comparing laparoscopic and conventional open surgical treatments for colon cancer: the ALCCaS trial. *Ann Surg* 2008; 248: 728-738 [PMID: 18948799 DOI: 10.1097/SLA.0b013e31818b759500000658-200811000-00007]
22 Poston GJ, Tait D, O'Connell S, Bennett A, Berendse S. Diagnosis and management of colorectal cancer: summary of NICE guidance. *BMJ* 2011; 343: d6751 [PMID: 22074710 DOI: 10.1136/bmj.d6751bmj.d6751]
23 Clinical Outcomes of Surgical Therapy Study Group. A comparison of laparoscopically assisted and open colectomy for colon cancer. *N Engl J Med* 2004; 350: 2050-2059 [PMID: 15141043]
24 National Comprehensive Cancer Network. NCCN Guidelines for Colon and Rectal Cancer. Version 1 2006. Available from: http: //www.nccn.org/
25 Cunningham D, Atkin W, Lenz HJ, Lynch HT, Minsky B, Nordlinger B, Starling N. Colorectal cancer. *Lancet* 2010; 375: 1030-1047 [PMID: 20304247 DOI: S0140-6736(10)60353-4]
26 卿三华, 饶开运, 蒋会勇, StevanD.Wexner. 原发性结直肠癌解剖部位在美国白人与中国人之间分布趋势的比较. 中华胃肠外科杂志 2002; 5: 123-125
27 Sloothaak DA, Geijsen DE, van Leersum NJ, Punt CJ, Buskens CJ, Bemelman WA, Tanis PJ. Optimal time interval between neoadjuvant chemoradiotherapy and surgery for rectal cancer. *Br J Surg* 2013; 100: 933-939 [PMID: 23536485 DOI: 10.1002/bjs.9112]
28 Lim SB, Choi HS, Jeong SY, Kim DY, Jung KH, Hong YS, Chang HJ, Park JG. Optimal surgery time after preoperative chemoradiotherapy for locally advanced rectal cancers. *Ann Surg* 2008; 248: 243-251 [PMID: 18650634 DOI: 10.1097/SLA.0b013e31817fc2a000000658-200808000-00014]
29 汪建平. 中国《结直肠癌诊疗规范(2010版)》解读. 中华胃肠外科杂志 2011; 14: 1-4
30 Bujko K, Nowacki MP, Nasierowska-Guttmejer A, Michalski W, Bebenek M, Kryj M. Long-term results of a randomized trial comparing preoperative short-course radiotherapy with preoperative conventionally fractionated chemoradiation for rectal cancer. *Br J Surg* 2006; 93: 1215-1223 [PMID: 16983741 DOI: 10.1002/bjs.5506]
31 Latkauskas T, Pauzas H, Gineikiene I, Janciauskiene R, Juozaityte E, Saladzinskas Z, Tamelis A, Pavalkis D. Initial results of a randomized controlled trial comparing clinical and pathological downstaging of rectal cancer after preoperative short-course radiotherapy or long-term chemoradiotherapy, both with delayed surgery. *Colorectal Dis* 2012; 14: 294-298 [PMID: 21899712 DOI: 10.1111/j.1463-1318.2011.02815.x]
32 Siegel R, Burock S, Wernecke KD, Kretzschmar A, Dietel M, Loy V, Koswig S, Budach V, Schlag PM. Preoperative short-course radiotherapy versus combined radiochemotherapy in locally advanced rectal cancer: a multi-centre prospectively randomised study of the Berlin Cancer Society. *BMC Cancer* 2009; 9: 50 [PMID: 19200365 DOI: 10.1186/1471-2407-9-501471-2407-9-50]
33 Ceelen W, Fierens K, Van Nieuwenhove Y, Pattyn P. Preoperative chemoradiation versus radiation alone for stage II and III resectable rectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *Int J Cancer* 2009; 124: 2966-2972 [PMID: 19253365 DOI: 10.1002/ijc.24247]
34 Sargent DJ, Marsoni S, Monges G, Thibodeau SN, Labianca R, Hamilton SR, French AJ, Kabat B, Foster NR, Torri V, Ribic C, Grothey A, Moore M, Zaniboni A, Seitz JF, Sinicrope F, Gallinger S. Defective mismatch repair as a predictive marker for lack of efficacy of fluorouracil-based adjuvant therapy in colon cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28: 3219-3226 [PMID: 20498393 DOI: 10.1200/JCO.2009.27.1825JCO.2009.27.1825]
35 Sinicrope FA, Foster NR, Thibodeau SN, Marsoni S, Monges G, Labianca R, Kim GP, Yothers G, Allegra C, Moore MJ, Gallinger S, Sargent DJ. DNA mismatch repair status and colon cancer recurrence and survival in clinical trials of 5-fluorouracil-based adjuvant therapy. *J Natl Cancer Inst* 2011; 103: 863-875 [PMID: 21597022 DOI: 10.1093/jnci/djr153djr153]
36 Kim ST, Lee J, Park SH, Park JO, Lim HY, Kang WK, Kim JY, Kim YH, Chang DK, Rhee PL, Kim DS, Yun H, Cho YB, Kim HC, Yun SH, Lee WY, Chun HK, Park YS. Clinical impact of microsatellite instability in colon cancer following adjuvant FOLFOX therapy. *Cancer Chemother Pharmacol* 2010; 66: 659-667 [PMID: 20033812 DOI: 10.1007/s00280-009-1206-3]

■应用要点

本文综述了CRC的NCCN、NICE指南和卫生部诊疗规范的异同点, 为临床诊治提供重要参考, 使得临床医师在具体工作中有章可循、有据可依.

■同行评价
本文总结了3个诊疗规范的不同, 并说明各自的优点和我国自己的指南特点, 具有一定指导意义.

37 National Institute for Health and Clinical Excellence. The diagnosis and management of colorectal cancer. (Clinical guideline 131) 2011. Available from: http://www.nice.org.uk/CG131

38 National Comprehensive Cancer Network. NCCN Guidelines for Colon and Rectal Cancer. Version 2 2009. Available from: http: //www.nccn.org/

39 Maughan TS, Adams RA, Smith CG, Meade AM, Seymour MT, Wilson RH, Idziaszczyk S, Harris R, Fisher D, Kenny SL, Kay E, Mitchell JK, Madi A, Jasani B, James MD, Bridgewater J, Kennedy MJ, Claes B, Lambrechts D, Kaplan R, Cheadle JP. Addition of cetuximab to oxaliplatin-based first-line combination chemotherapy for treatment of advanced colorectal cancer: results of the randomised phase 3 MRC COIN trial. *Lancet* 2011; 377: 2103-2114 [PMID: 21641636 DOI: 10.1016/S0140-6736(11)60613-2]

40 Tveit KM, Guren T, Glimelius B, Pfeiffer P, Sorbye H, Pyrhonen S, Sigurdsson F, Kure E, Ikdahl T, Skovlund E, Fokstuen T, Hansen F, Hofsli E, Birkemeyer E, Johnsson A, Starkhammar H, Yilmaz MK, Keldsen N, Erdal AB, Dajani O, Dahl O, Christoffersen T. Phase III trial of cetuximab with continuous or intermittent fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin (Nordic FLOX) versus FLOX alone in first-line treatment of metastatic colorectal cancer: the NORDIC-VII study. *J Clin Oncol* 2012; 30: 1755-1762 [PMID: 22473155 DOI: 10.1200/JCO.2011.38.0915]

41 National Institute for Health and Clinical Excellence. Cetuximab for the first-line treatment of metastatic colorectal cancer. (Technology appraisal 176) 2009. Available from: http: //guidance.nice.org.uk/TA176

42 Meads C, Round J, Tubeuf S, Moore D, Pennant M, Bayliss S. Cetuximab for the first-line treatment of metastatic colorectal cancer. *Health Technol Assess* 2010; 14 Suppl 1: 1-8 [PMID: 20507797 DOI: 10.3310/hta14Suppl1/01]

43 Lièvre A, Bachet JB, Boige V, Cayre A, Le Corre D, Buc E, Ychou M, Bouché O, Landi B, Louvet C, André T, Bibeau F, Diebold MD, Rougier P, Ducreux M, Tomasic G, Emile JF, Penault-Llorca F, Laurent-Puig P. KRAS mutations as an independent prognostic factor in patients with advanced colorectal cancer treated with cetuximab. *J Clin Oncol* 2008; 26: 374-379 [PMID: 18202412 DOI: 10.1200/JCO.2007.12.590626/3/374]

44 De Roock W, Jonker DJ, Di Nicolantonio F, Sartore-Bianchi A, Tu D, Siena S, Lamba S, Arena S, Frattini M, Piessevaux H, Van Cutsem E, O'Callaghan CJ, Khambata-Ford S, Zalcberg JR, Simes J, Karapetis CS, Bardelli A, Tejpar S. Association of KRAS p.G13D mutation with outcome in patients with chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer treated with cetuximab. *JAMA* 2010; 304: 1812-1820 [PMID: 20978259 DOI: 10.1001/jama.2010.1535304/16/1812]

45 Van Cutsem E, Köhne CH, Hitre E, Zaluski J, Chang Chien CR, Makhson A, D'Haens G, Pintér T, Lim R, Bodoky G, Roh JK, Folprecht G, Ruff P, Stroh C, Tejpar S, Schlichting M, Nippgen J, Rougier P. Cetuximab and chemotherapy as initial treatment for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2009; 360: 1408-1417 [PMID: 19339720 DOI: 10.1056/NEJMoa0805019]

46 刘伟, 王丽, 余英豪, 王旭洲, 武一曼, 吴在增, 欧阳学农, 王烈. k-ras基因在中国结直肠癌患者中的突变状态. 世界华人消化杂志 2011; 19: 1367-1374

47 Folprecht G, Grothey A, Alberts S, Raab HR, Köhne CH. Neoadjuvant treatment of unresectable colorectal liver metastases: correlation between tumour response and resection rates. *Ann Oncol* 2005; 16: 1311-1319 [PMID: 15870084 DOI: 10.1093/annonc/mdi246]

48 Cassidy J, Clarke S, Díaz-Rubio E, Scheithauer W, Figer A, Wong R, Koski S, Lichinitser M, Yang TS, Rivera F, Couture F, Sirzén F, Saltz L. Randomized phase III study of capecitabine plus oxaliplatin compared with fluorouracil/folinic acid plus oxaliplatin as first-line therapy for metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008; 26: 2006-2012 [PMID: 18421053 DOI: 10.1200/JCO.2007.14.989826/12/2006]

49 Porschen R, Arkenau HT, Kubicka S, Greil R, Seufferlein T, Freier W, Kretzschmar A, Graeven U, Grothey A, Hinke A, Schmiegel W, Schmoll HJ. Phase III study of capecitabine plus oxaliplatin compared with fluorouracil and leucovorin plus oxaliplatin in metastatic colorectal cancer: a final report of the AIO Colorectal Study Group. *J Clin Oncol* 2007; 25: 4217-4223 [PMID: 17548840 DOI: 10.1200/JCO.2006.09.2684]

50 Cunningham D, Humblet Y, Siena S, Khayat D, Bleiberg H, Santoro A, Bets D, Mueser M, Harstrick A, Verslype C, Chau I, Van Cutsem E. Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004; 351: 337-345 [PMID: 15269313 DOI: 10.1056/NEJMoa033025351/4/337]

编辑 田滢 电编 闫晋利

世界华人消化杂志 2013年5月18日; 21(14): 1303-1308
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

RKIP过表达对肝星状细胞在细胞外基质上黏附的抑制

马俊骥, 赵 慧, 姜慧卿

马俊骥, 赵慧, 姜慧卿, 河北医科大学第二医院消化内科, 河北省消化病实验室, 河北省消化病研究所 河北省石家庄市 050000
马俊骥, 主治医师, 主要从事慢性肝病和消化系肿瘤的研究.
国家自然科学基金资助项目, Nos. 81200311, 81170411
河北省自然科学基金资助项目, No. C2010000530
作者贡献分布: 此课题由马俊骥与姜慧卿共同设计; 研究过程由马俊骥与赵慧共同操作完成; 数据分析由马俊骥与赵慧完成; 本论文写作由马俊骥、赵慧及姜慧卿共同完成.
通讯作者: 姜慧卿, 教授, 主任医师, 050000, 河北省石家庄市新华区和平西路215号, 河北医科大学第二医院消化内科.
huiqingjiang@yahoo.com.cn
电话: 0311-66002955
收稿日期: 2013-03-10 修回日期: 2013-03-31
接受日期: 2013-04-12 在线出版日期: 2013-05-18

RKIP overexpression inhibits hepatic stellate cell adhesion to extracellular matrix

Jun-Ji Ma, Hui Zhao, Hui-Qing Jiang

Jun-Ji Ma, Hui Zhao, Hui-Qing Jiang, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University; Hebei Key Laboratory of Gastroenterology; Hebei Institute of Gastroenterology, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China
Supported by: the National Natural Science Foundation of China, Nos. 81200311 and 81170411; and the National Natural Science Foundation of Hebei Province, No. C2010000530
Correspondence to: Hui-Qing Jiang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University; Hebei Key Laboratory of Gastroenterology; Hebei Institute of Gastroenterology, 215 Heping West Road, Xinhua District, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China. huiqingjiang@yahoo.com.cn
Received: 2013-03-10 Revised: 2013-03-31
Accepted: 2013-04-12 Published online: 2013-05-18

Abstract

AIM: To investigated the role of Raf kinase inhibitor protein (RKIP) in the adhesion of hepatic stellate cells (HSCs) to extracellular matrix (ECM).

METHODS: HSCs (LX-2 cell line) were cultured and infected with an adenovirus vector carrying RKIP (RKIP-AD) or the control adenovirus vector (GFP-AD). Green fluorescence was detected under an inverted fluorescence microscope to assess the infection efficiency. The number of virus particles required was calculated as the cell count × multiplicity of infection (MOI). RKIP protein expression was investigated by Western blot. Infected cells were adjusted to a density of 1×10^5 cells/mL, plated in dishes cultured with matrigel, type I collagen, and fibronectin. LX-2 cells were cultured for 1 h in a humidified atmosphere of 5% CO_2 and 95% air at 37 ℃. The cells were fixed in 4% paraformaldehyde and stained with crystal violet. Cells in each field were viewed under light microscopy and positively stained cells were counted.

RESULTS: The infection efficiency of RKIP-AD or GFP-AD reached 80%-90%. Adenovirus-mediated gene transfection at a MOI of 5 was employed for subsequent experiments. In the RKIP-AD group, RKIP expression was significantly higher than that in the control group (3.47 ± 0.02 *vs* 1.74 ± 0.13, $P < 0.05$). RKIP overexpression reduced the number of HSC adhered to matrigel (80 ± 14 *vs* 152 ± 4, $P < 0.05$), type I collagen (70 ± 13 *vs* 138 ± 36, $P < 0.05$) and fibronectin (133 ± 27 *vs* 276 ± 106, $P < 0.05$) compared to the control group.

CONCLUSION: RKIP overexpression inhibits HSC adhesion to ECM.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Hepatic fibrosis; Hepatic stellate cells; Raf kinase inhibitor protein; Extracellular matrix; Adhesion

Ma JJ, Zhao H, Jiang HQ. RKIP overexpression inhibits hepatic stellate cell adhesion to extracellular matrix. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(14): 1303-1308 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1303.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i14.1303

摘要

目的: 通过Raf激酶抑制蛋白(Raf kinase inhibitor protein, RKIP)过表达腺病毒感染肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSC), 模拟肝纤维化病理状态下细胞外基质(extracellular matrix, ECM)成分的改变, 探讨RKIP对HSC黏附功能的影响.

方法: 实验共分两组, 分别是RKIP过表达组

■背景资料
肝纤维化是各种不同致病因子引起慢性肝病进而发展为肝硬化的共同病理改变, 即肝脏细胞外基质(extracellular matrix, ECM)过度合成与异常沉积. 引起慢性肝损伤的常见原因包括病毒性肝炎、酒精性脂肪肝、非酒精性脂肪肝、药物损伤、自身免疫性肝炎和原发性胆汁性肝硬化等.

■同行评议者
李涛, 副主任医师, 北京大学人民医院肝胆外科

■研发前沿
肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)在正常肝脏占肝脏细胞数量的5%-10%, 定居在Disse间隙, HSC在肝损伤后活化形成成纤维样细胞, 是合成ECM和参与纤维化过程最主要的细胞成分, 他的激活是肝纤维化发生的中心环节. HSC增殖、凋亡、黏附和迁移等生物活性的研究是此研究领域的热点和重点.

(RKIP-AD)和阴性对照组(GFP-AD). 首先确定细胞感染病毒的最适感染强度(multiplicity of infection, MOI)值, 在倒置荧光显微镜下观察细胞状态, 计数细胞荧光数, 筛选出最适MOI值. Western blot方法确定病毒感染后验证外源RKIP在细胞内表达情况. 已干预好的细胞稀释成1.0×10^5/mL的浓度种在盖玻片和已准备好的由matrigel、Ⅰ型胶原及纤维连接蛋白包被的24孔板中, 37 ℃培养1 h后, 甲醛固定, 结晶紫染色. 200×纤维镜下观察并计数黏附的细胞数, 资料数据以mean±SD表示, 采用*t*检验进行统计分析.

结果: 人源HSC细胞株LX-2的腺病毒载体感染率可达到80%-90%, 适宜的MOI值为5. RKIP过表达组较对照组蛋白表达增多(3.47±0.02 *vs* 1.74±0.13, *P*<0.05). 与GFP-AD对照组相比, RKIP在HSC的过表达抑制细胞在matrigel上的黏附(80±14 *vs* 152±42, *P*<0.05). 与GFP-AD对照组相比, RKIP在HSC的过表达抑制细胞在Ⅰ型胶原上的黏附(70±13 *vs* 138±36, *P*<0.05). 与GFP-AD对照组相比, RKIP在HSC的过表达抑制细胞在纤维连接蛋白上的黏附(133±27 *vs* 276±106, *P*<0.05).

结论: 体外过表达RKIP可以抑制HSC在胶原基质上的黏附.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 肝纤维化; 肝星状细胞; Raf激酶抑制蛋白; 细胞外基质; 黏附

核心提示: 慢性损伤伴随着肝细胞再生及基质重塑, Raf激酶抑制蛋白(Raf kinase inhibitor protein, RKIP)可以明显减少肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSC)在细胞外基质matrigel、Ⅰ型胶原和纤维连接蛋白上黏附的细胞数. RKIP过表达后HSC在与细胞外基质黏附能力下降伴其迁移能力增加, 因此慢性肝损伤的部位可以有大量HSC聚集.

马俊骥, 赵慧, 姜慧卿. RKIP过表达对肝星状细胞在细胞外基质上黏附的抑制. 世界华人消化杂志 2013; 21(14): 1303-1308
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1303.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i14.1303

0 引言

肝纤维化是各种不同致病因子引起慢性肝病进而发展为肝硬化的共同病理改变, 即肝脏细胞外基质(extracellular matrix, ECM)过度合成与异常沉积[1]. 病毒性肝炎、酒精性脂肪肝、非酒精性脂肪肝、药物损伤、自身免疫性肝炎和原发性胆汁性肝硬化等是引起肝损伤常见原因[2]. 肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSC)在正常肝脏占肝脏细胞数量的5%-10%, 定居在Disse间隙, HSC在肝损伤后活化形成成纤维样细胞, 是合成ECM和参与纤维化过程最主要的细胞成分, 他的激活是肝纤维化发生的中心环节[3,4]. 我们前期研究发现Raf激酶抑制蛋白(Raf kinase inhibitor protein, RKIP)在肝脏纤维化组织表达下降, 随着HSC的活化RKIP表达也明显降低, RKIP可以促进HSC迁移[5,6]. 迁移能力与细胞的黏附力是有关的, RKIP究竟在HSC与ECM间黏附过程中起着什么样的作用, 目前尚不清楚.

1 材料和方法

1.1 材料 HSC细胞株人LX-2经美国Friedman教授授权由美国Mount Sinai医科大学惠赠. RKIP-AD为携带*RKIP*基因并表达绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)的重组腺病毒, GFP-AD是仅表达GFP的腺病毒RKIP-AD作为对照.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养和病毒感染分组: 将保存于液氮中的LX-2细胞株取出, 立即37 ℃水浴复苏, 于超净工作台中加2 mL的0%DMEM培养基, 1200 *g*离心5 min, 以10%FBS、100 IU/mL青霉素、100 μg/mL链霉素、4 mmol/L谷氨酰胺及1 mol/L HEPES的DMEM培养基稀释成1×10^6/mL的浓度接种于75 cm^{2}培养瓶中, 37 ℃、5%CO_2条件的培养箱中培养. 当生长至致密单层时, 用0.25%胰蛋白酶消化, 以1∶4传代, 24 h换液1次, 72 h再次培养传代. 病毒感染HSC的分组: (1)RKIP-AD重组腺病毒组, 在HSC内表达外源*RKIP*和*GFP*基因; (2)GFP-AD对照组, 在HSC内表达外源*GFP*基因. 将LX-2细胞以每孔3000个接种于96孔板中, 但细胞生长至90%左右时, RKIP-AD重组腺病毒或者GFP-AD腺病毒按最适感染强度(multiplicity of infection, MOI)值分别为5、10、15、20来干预细胞, 每种MOI设10个复孔, 分别于12、24、48 h于荧光显微镜下观察细胞状态, 并计数荧光数.

1.2.2 Western blot: 取腺病毒干预的LX-2细胞, 弃去上清, 冰冷的PBS漂洗两遍, 加入1 mL PBS液, 细胞刮刀将细胞刮下, 移入Eppendorf管中, 4 ℃ 3000 *g*离心10 min. 弃上清, 加入150 μL改良的RIPA裂解缓冲液, 微型混合器上充分振荡, 冰上静置裂解30 min, 4 ℃ 10000 *g*离心10 min, 取上清用Braford法测总蛋白含量. 按每孔80 μg计

算样品的上样量, 将蛋白样品与上样缓冲液以4∶1的比例混匀, 煮沸5 min加在上样孔中, 进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE), 分离胶的浓度为12%. 用0.22 μm PVDF膜进行冰浴转膜, 取出膜用5%脱脂奶粉在室温下封闭4 h. 4 ℃下一抗封闭过夜. 二抗室温封闭2 h. 在暗室中滴加ECL试剂反应3 min, 曝光、显影和定影. 显影条带经香港基因公司G: BOX凝胶成像分析仪采集后, 用美国NIH ImageJ 1.38软件进行定量分析. RKIP以GAPDH作为内参照, 结果以目的条带和内参照的光密度百分比来表示.

1.2.3 黏附试验: (1)matrigel的配制: 用无Ca^{2+}、Mg^{2+}的0%DMEM稀释为50 μg/mL备用, 冰上操作; (2) Ⅰ型胶原的配制: 用无菌10×PBS、dH_2O和1N NaOH稀释成50 μg/mL, 冰上操作; (3)纤维连接蛋白: 用无血清、Ca^{2+}、Mg^{2+}的0% DMEM稀释为50 μg/mL备用, 冰上操作; (4)包被孔板: 在超净工作台上, 取配置好的基质胶以200 μL/孔均匀平铺于24板内, 每组设3个复孔, 置于4 ℃冰箱中过夜. 之后用无菌PBS洗去多余的基质胶, 每孔加入0.5%的BSA 200 μL室温孵育30 min, 无菌PBS漂洗3遍备用; (5)将RKIP-AD重组腺病毒或者GFP-AD腺病毒感染的细胞从培养箱中取出, 弃上清, 以0.25%的胰蛋白酶消化至细胞松散后, 弃去消化液, 加入3 mL的0%DMEM培养基, 制成单细胞悬液计数后稀释成1×10^5/mL的浓度. 将细胞悬液接种在包被好的24孔板内, 每孔接种1 mL, 置于37 ℃、5%CO_2培养箱中孵育1 h后取出培养板, 吸去上清, 无菌PBS洗去未黏附的细胞, 4%多聚甲醛固定30 min, PBS漂洗后, 结晶紫染色15 min, 在200倍显微镜下随机选取12个不同视野计数细胞数, 并采集图片.

统计学处理 计量资料数据均以mean±SD表示, 用SPSS13.0软件进行统计分析, 两组间均数差异性比较采用*t*检验, $P<0.05$具有统计学意义.

2 结果

2.1 病毒感染HSC后Western blot鉴定结果 LX-2感染腺病毒12 h后, 荧光显微镜下观察含荧光的细胞数较少. 24 h后MOI值为20的感染细胞几乎全部死亡, 胞体碎裂, MOI值为15的感染细胞折光性较差, 胞质减少, 胞核固缩, 少数细胞碎裂. 48 h后MOI值为10的细胞状态也较差, MOI值为5的细胞折光性强, 胞质饱满, 核质清晰, 计数荧光个数, 荧光感染率在80%-90%左右. 故适宜的

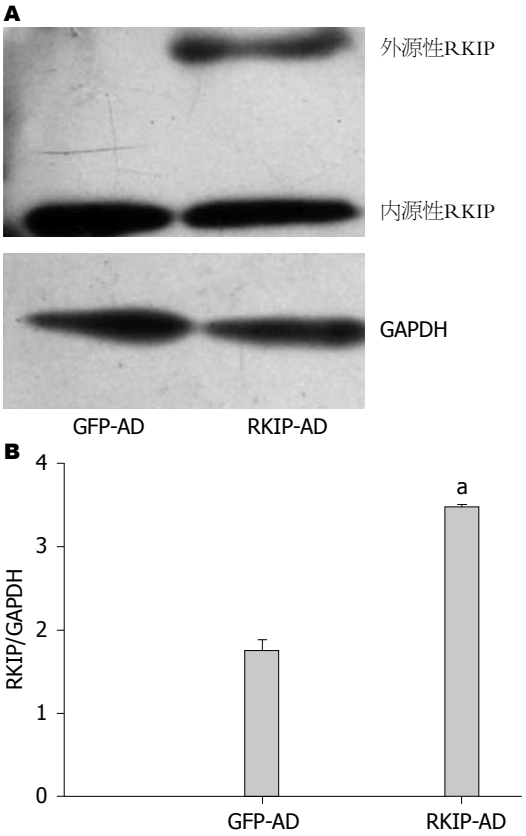


图 1 RKIP过表达腺病毒感染HSC后的Western blot结果. RKIP-AD腺病毒在感染HSC后出现一条外源性RKIP条带, RKIP以GAPDH作为内参照, 结果以目的条带和内参照的光密度百分比来表示. 过表达组(RKIP-AD)较对照组(GFP-AD)RKIP蛋白表达量明显增多, $^aP<0.05$ *vs* GFP-AD组. RKIP: Raf激酶抑制蛋白; GFP: 绿色荧光蛋白.

MOI值为5, 感染时间为48 h. 与GFP-AD组相比, RKIP-AD组在49 kDa出现一条外源性RKIP条带, 过表达组较对照组RKIP蛋白表达量明显增多(3.47±0.02 *vs* 1.74±0.13, $P<0.05$)(图1).

2.2 RKIP减少HSC在matrigel上的黏附 matrigel基质胶是一种可溶性基底膜基质, 在matrigel上培养的细胞有着类似体内环境的良好分化表现, RKIP过表达组和对照组相比, 并没有明显的影响细胞的伸展. 但是与GFP-AD组相比, RKIP-AD感染的LX-2细胞在matrigel上黏附的细胞数明显减少(80±14 *vs* 152±42, $P<0.05$)(图2).

2.3 RKIP减少HSC在Ⅰ型胶原上的黏附 Ⅰ型胶原是在肝纤维化时增多最明显的胶原, 属于纤维胶原, 原纤维排列成粗大的束状, 抗张能力强, 与GFP-AD组相比, RKIP-AD感染的LX-2细胞在Ⅰ型胶原上黏附的细胞数明显减少(70±13 *vs* 138±36, $P<0.05$)(图3).

2.4 RKIP减少HSC在纤维连接蛋白上的黏附 肝窦状腺内皮细胞生成的纤维连接蛋白薄片早期变化能够激活HSC, 本研究显示GFP-AD感染的

■相关报道

Raf激酶抑制蛋白(Raf kinase inhibitor protein, RKIP)在肝脏纤维化组织表达下降, 随着HSC的活化RKIP表达也明显降低, RKIP可以促进HSC迁移. RKIP可以干扰Raf-1的激活, 进而负向调节Raf/MEK/ERK信号通路, 还可以通过G蛋白偶联受体(G protein-coupled receptor, GPCR)介导的信号通路及核因子κB(nuclear factor κB, NF-κB)信号通路来发挥其调节作用.

■创新盘点

本文通过RKIP过表达腺病毒感染肝星状细胞细胞株LX-2，同时用matrigel、Ⅰ型胶原和纤维连接蛋白模拟肝纤维化病理状态下ECM成分的改变，研究发现体外过表达RKIP可以抑制HSC在胶原基质上的黏附功能.

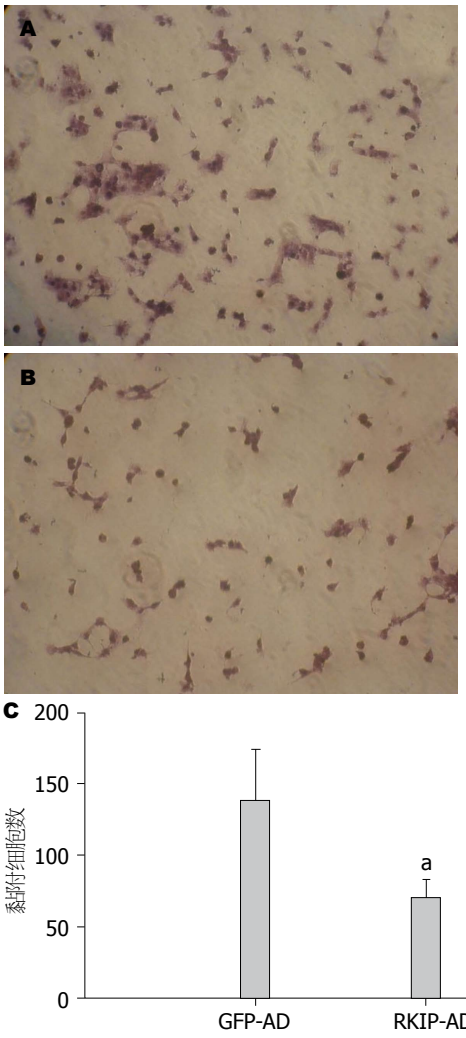


图 2 肝星状细胞与matrigel基质胶的黏附. A: 与GFP−AD组; B: RKIP−AD组; C: 两组黏附细胞数比较RKIP−AD组黏附细胞数减少, $^{a}P<0.05$, RKIP−AD组 *vs* GFP−AD组. RKIP: Raf激酶抑制蛋白; GFP: 绿色荧光蛋白.

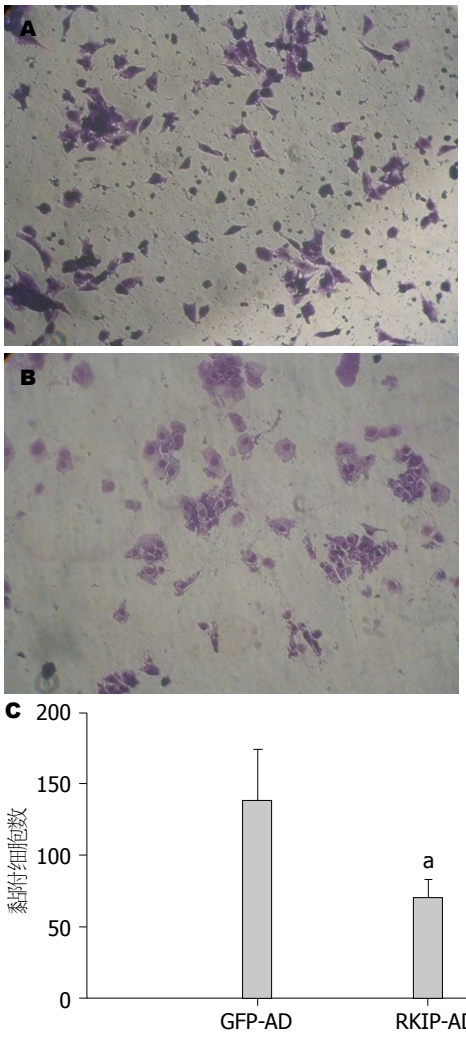


图 3 肝星状细胞与Ⅰ型胶原的黏附. A: 与GFP−AD组; B: RKIP−AD组; C: 两组黏附细胞数比较RKIP−AD组黏附细胞数减少, $^{a}P<0.05$ *vs* GFP−AD组. RKIP: Raf激酶抑制蛋白; GFP: 绿色荧光蛋白.

LX-2细胞在纤维连接蛋白上黏附后细胞伸展性较好, RKIP-AD感染的LX-2细胞在纤维连接蛋白上黏附的细胞形态多为圆形. 与GFP-AD组相比, RKIP-AD组黏附的细胞数明显减少(133±27 *vs* 276±106, $P<0.05$)(图4).

3 讨论

肝纤维化是很多慢性肝病发展至肝硬化乃至肝癌的必经阶段, 因而肝纤维化的逆转一直是科学研究的永恒主题和终极目标. 20世纪前期认为硬化不是慢性过程, 而是疾病最终结果, 这无疑忽视了伴随慢性损伤而发生的肝细胞再生及基质重塑这一过程. 到1970年, Popper等[7]强调了酶学过程在纤维化逆转中的重要性, 使人们认识到由于慢性肝损伤而产生的纤维瘢痕是可以被吸收的. 到1979年, Pérez-Tamayo[8]在强有力的实验证据和临床证据支持下提出了肝纤维化是可逆转的. 细胞外基质与HSC相互作用的研究将为逆转肝纤维化提供理论依据.

在研究HSC黏附功能时就不得不考虑ECM的影响. 肝纤维化特征性病理改变即是肝脏内ECM异常沉积[9]. ECM主要包括胶原、非胶原糖蛋白和蛋白多糖. 在肝纤维化形成过程中, 已发现非胶原糖蛋白如纤维连接蛋白、层黏连蛋白、腱生蛋白、分层蛋白、巢蛋白和透明质酸表达增加, 而一些蛋白多糖成分如肝素、皮肤素、硫酸软骨素、基底膜蛋白多糖、核心蛋白多糖等过度沉积; 而与肝纤维化关系最密切的是Ⅰ型的沉积, 随着肝纤维化的发生, Ⅰ型胶原从基因表达和蛋白水平上都明显增加[10]. 肝窦状腺内皮细胞和HSC拥有共同的胚胎起源, 由肝窦状腺内皮细胞生成的纤维连接蛋白薄片早期变

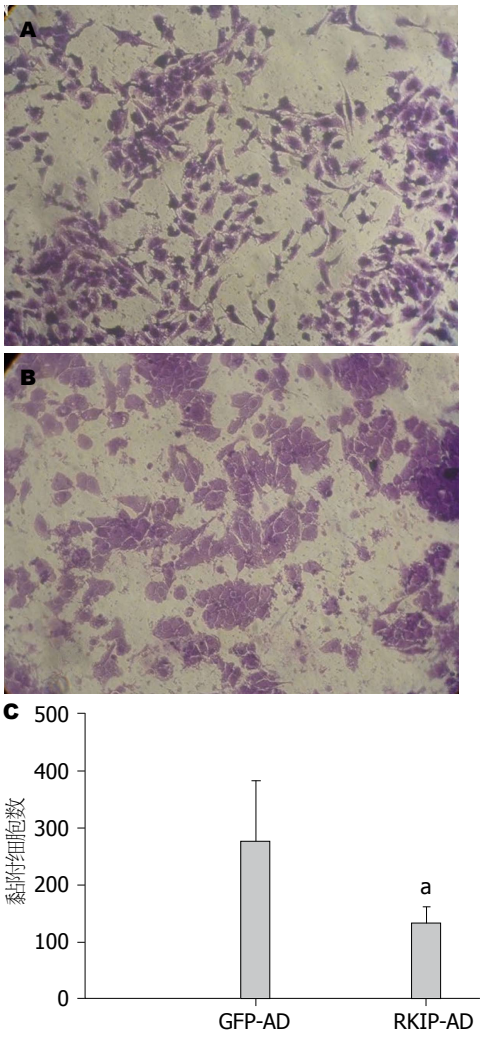


图 4 肝星状细胞与纤维连接蛋白的黏附. A: 与GFP−AD组; B: RKIP−AD组; C: 两组黏附细胞数比较RKIP−AD组黏附细胞数减少, $^aP<0.05$ *vs* GFP−AD组. RKIP: Raf激酶抑制蛋白; GFP: 绿色荧光蛋白.

化能够激活HSC[11]. 细胞外基质过度沉积导致肝脏正常组织结构和功能破坏, 最终导致病理性的异常改变. 在本实验过程中matrigel基质胶用来模拟ECM, Ⅰ型胶原和纤维连接蛋白作为两个代表性的基质组分.

我们前期利用BDL肝纤维化动物模型和HSC体外培养, 采用Western blot方法研究发现, 作为Raf-1/MEK/ERK1,-2信号通路的重要调节分子, RKIP在肝脏纤维化组织表达下降, 随着HSC的活化, RKIP的表达也明显降低. 我们用MTT、transwell和伤口愈合实验方法证明, RKIP可以抑制HSC细胞增殖, 但却促进其迁移[5,6]. 在本次研究中通过RKIP过表达腺病毒载体感染HSC, 感染效率高, 表达稳定. 我们发现RKIP可以明显减少HSC在细胞外基质上的黏附数, 这可能是因为RKIP过表达后HSC与ECM及其相应组分胶原Ⅰ和纤维连接蛋白之间的连接能力而产生的效应. 也有可能是因为RKIP通过调节Raf-1/MEK/ERK和核因子κB(nuclear factor κB, NF-κB)等信号通路进而影响了基质代谢相关酶产生的作用. RKIP的分子量为23 kDa, 具有与磷脂酰乙醇胺结合的特性[12]. 1999年Yeung等[13]利用酵母双杂交法研究发现RKIP可以干扰Raf-1的激活, 进而负向调节Raf/MEK/ERK信号通路. 后续又有大量研究法现RKIP还可以通过G蛋白偶联受体(G protein-coupled receptor, GPCR)介导的信号通路及NF-κB信号通路来发挥其调节作用[14]. 2009年, Dangi-Garimella等[15]又研究发现, RKIP的调节细胞迁移的功能与Let-7有关. 因此结合前期的研究结果, 我们推断RKIP作为多条信号通路调节因子, 在调节HSC迁移黏附过程中也发挥特有的功效.

总之, 我们认为RKIP在肝纤维化形成过程中可以抑制HSC在细胞外基质上的黏附功能. HSC在与细胞外基质黏附能力下降的同时其迁移能力可以相应增加, 此有利于大量HSC在慢性肝损伤部位的迁移、黏附和聚集, 因而RKIP对HSC黏附能力影响的研究可以为阐述肝纤维化形成机制提供新的理论依据, 从而指导肝纤维化的防治工作.

■应用要点

结合前期RKIP对HSC迁移功能的影响研究, 我们认为HSC在与细胞外基质黏附能力下降的同时其迁移能力可以相应增加, 此有利于大量HSC在慢性肝损伤部位的迁移、黏附和聚集, 因而RKIP对HSC黏附能力影响的研究可以为阐述肝纤维化形成机制提供新的理论依据, 从而指导肝纤维化的防治工作.

4 参考文献

1 Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology* 2008; 134: 1655-1669 [PMID: 18471545 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.03.003]
2 Wells RG. The role of matrix stiffness in regulating cell behavior. *Hepatology* 2008; 47: 1394-1400 [PMID: 18307210 DOI: 10.1002/hep.22193]
3 Olsen AL, Bloomer SA, Chan EP, Gaça MD, Georges PC, Sackey B, Uemura M, Janmey PA, Wells RG. Hepatic stellate cells require a stiff environment for myofibroblastic differentiation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2011; 301: G110-G118 [PMID: 21527725 DOI: 10.1152/ajpgi.00412.2010]
4 马俊骥, 时军利, 赵慧, 程丽娟, 姜慧卿. 大鼠原代肝星状细胞的分离方法研究. 河北医科大学学报 2012; 33: 1-3
5 马俊骥, 姜慧卿, 李芳芳, 崔东来, 刘丽, 扈彩霞, 张杰英. RKIP在胆总管结扎肝纤维化大鼠肝脏组织的表达. 中国老年学杂志 2008; 28: 1998-2000
6 Ma J, Li F, Liu L, Cui D, Wu X, Jiang X, Jiang H. Raf kinase inhibitor protein inhibits cell proliferation but promotes cell migration in rat hepatic stellate cells. *Liver Int* 2009; 29: 567-574 [PMID: 19323783 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2009.01981.x]
7 Popper H, Uenfriend S. Hepatic fibrosis. Correlation of biochemical and morphologic investigations. *Am J Med* 1970; 49: 707-721 [PMID: 4924592]
8 Pérez-Tamayo R. Cirrhosis of the liver: a reversible disease? *Pathol Annu* 1979; 14: 183-213 [PMID: 232753]

■同行评价
本文设计合理, 方法可行, 结果可信, 讨论恰当, 统计学方法正确, 学术价值较高.

9 Tarrats N, Moles A, Morales A, García-Ruiz C, Fernández-Checa JC, Marí M. Critical role of tumor necrosis factor receptor 1, but not 2, in hepatic stellate cell proliferation, extracellular matrix remodeling, and liver fibrogenesis. *Hepatology* 2011; 54: 319-327 [PMID: 21523796 DOI: 10.1002/hep.24388]

10 Dooley S, ten Dijke P. TGF-β in progression of liver disease. *Cell Tissue Res* 2012; 347: 245-256 [PMID: 22006249 DOI: 10.1007/s00441-011-1246-y]

11 Jarnagin WR, Rockey DC, Koteliansky VE, Wang SS, Bissell DM. Expression of variant fibronectins in wound healing: cellular source and biological activity of the EIIIA segment in rat hepatic fibrogenesis. *J Cell Biol* 1994; 127: 2037-2048 [PMID: 7806580 DOI: 10.1083/jcb.127.6.2037]

12 Bernier I, Tresca JP, Jollès P. Ligand-binding studies with a 23 kDa protein purified from bovine brain cytosol. *Biochim Biophys Acta* 1986; 871: 19-23 [PMID: 2938633 DOI: 10.1016/0167-4838(86)90128-7]

13 Yeung K, Seitz T, Li S, Janosch P, McFerran B, Kaiser C, Fee F, Katsanakis KD, Rose DW, Mischak H, Sedivy JM, Kolch W. Suppression of Raf-1 kinase activity and MAP kinase signalling by RKIP. *Nature* 1999; 401: 173-177 [PMID: 10490027 DOI: 10.1038/43686]

14 Klysik J, Theroux SJ, Sedivy JM, Moffit JS, Boekelheide K. Signaling crossroads: the function of Raf kinase inhibitory protein in cancer, the central nervous system and reproduction. *Cell Signal* 2008; 20: 1-9 [PMID: 17706925 DOI: 10.1016/j.cellsig.2007.07.003]

15 Dangi-Garimella S, Yun J, Eves EM, Newman M, Erkeland SJ, Hammond SM, Minn AJ, Rosner MR. Raf kinase inhibitory protein suppresses a metastasis signalling cascade involving LIN28 and let-7. *EMBO J* 2009; 28: 347-358 [PMID: 19153603 DOI: 10.1038/emboj.2008.294]

编辑 田滢 电编 闫晋利

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

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775

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

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2013年5月18日; 21(14): 1309-1314
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

p38 MAPK介导的血管紧张素Ⅱ的促肝星状细胞增殖作用

崔巍, 邵臻, 傅宝玉

崔巍, 邵臻, 中国医科大学附属第一医院传染科 辽宁省沈阳市 110001
傅宝玉, 中国医科大学附属第一医院消化内科 辽宁省沈阳市 110001
傅宝玉, 教授, 主要从事酒精性肝硬化发病机制的研究和治疗工作.
作者贡献分布: 此课题由崔巍在傅宝玉教授指导下设计; 研究内容中Western blot部分由邵臻完成; 其余内容由崔巍完成.
通讯作者: 崔巍, 副教授, 110001, 辽宁省沈阳市和平区南京街155号, 中国医科大学附属第一医院传染科. weicuisy@tom.com
电话: 024-83282068
收稿日期: 2013-02-27 修回日期: 2013-03-29
接受日期: 2013-04-12 在线出版日期: 2013-05-18

p38 MAPK-mediated proliferation-promoting effect of angiotensin Ⅱ on hepatic stellate cells

Wei Cui, Zhen Shao, Bao-Yu Fu

Wei Cui, Zhen Shao, Department of Infectious Diseases, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China
Bao-Yu Fu, Department of Digestive Diseases, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China
Correspondence to: Wei Cui, Associate Professor, Department of Infectious Diseases, the First Hospital of China Medical University, 155 Nanjing Street, Heping District, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. weicuisy@tom.com
Received: 2013-02-27 Revised: 2013-03-29
Accepted: 2013-04-12 Published online: 2013-05-18

Abstract

AIM: To elucidate the signal transduction mechanism by which angiotensin Ⅱ promotes the proliferation of hepatic stellate cells (HSCs).

METHODS: The influence of angiotensin Ⅱ on p38 MAPK expression in primarily cultured HSCs was detected by Western blot. The p38 MAPK inhibitor SB203580 was incubated with HSCs to observe its effect on angiotensin Ⅱ-induced transforming growth factor-β (TGF-β) secretion and collagen Ⅰ and Ⅳ expression.

RESULTS: Western blot analysis showed that, compared to the normal saline group, treatment with angiotensin Ⅱ (10^{-8}, 10^{-7}, 10^{-6} moL/L) for 24 h significantly induced p38 MAPK expression (0.45 ± 0.052, 0.61 ± 0.026, 0.87 ± 0.032 *vs* 0.27 ± 0.020, all $P < 0.0005$). Compared to the normal saline group, treatment with angiotensin Ⅱ (10^{-6} moL/L) for 24 h significantly induced HSC proliferation (0.1073 ± 0.0093 *vs* 0.5233 ± 0.0240, $P < 0.0005$), promoted incretion of TGF-β1 (10.6 ng/mL ± 0.98 ng/mL *vs* 100.8 ng/mL ± 3.67 ng/mL, $P < 0.0005$), and increased the expression of collagen α1(Ⅰ) and α1(Ⅳ) (1.13 ± 0.053 *vs* 3.74 ± 0.047; 1.35 ± 0.035 *vs* 4.07 ± 0.072; both $P < 0.0005$). Pre-treatment with SB203580 significantly attenuated the effect of angiotensin Ⅱ on the above parameters in HSCs (0.2033 ± 0.0176 *vs* 0.5233 ± 0.0240; 21.07 ng/mL ± 2.08 ng/mL *vs* 100.8 ng/mL ± 3.67 ng/mL; 1.16 ± 0.024 *vs* 3.74 ± 0.047; 1.56 ± 0.075 *vs* 4.07 ± 0.072, all $P < 0.0005$).

CONCLUSION: Angiotensin Ⅱ induces HSC proliferation and increases expression of TGF-β1 via the p38 MAPK pathway.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Angiotensin Ⅱ; p38 MAPK; Hepatic stellate cells; Liver fibrosis

Cui W, Shao Z, Fu BY. p38 MAPK-mediated proliferation-promoting effect of angiotensin Ⅱ on hepatic stellate cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(14): 1309-1314
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1309.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i14.1309

摘要

目的: 探讨血管紧张素Ⅱ(angiotensin Ⅱ, Ang Ⅱ)促进肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)增殖的相关信号机制.

方法: 原代培养HSC, 应用Western blot检测血管紧张素Ⅱ对HSC p38丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinases, p38 MAPK)表达的影响. 并应用p38 MAPK抑制剂SB203580与HSC共培养, 观察p38 MAPK抑制剂对血管紧张素Ⅱ促进HSC分泌转化生长因子-β1(transforming growth factor-β1, TGF-β1)以及增加α1(Ⅰ)、α1(Ⅳ)型胶原(Col)表达的影响.

■背景资料
肝星状细胞活化(hepatic stellate cell, HSC)是肝纤维化形成的中心环节. 多种细胞因子参与HSC活化及增殖调节. 近年研究证实血管紧张素Ⅱ(angiotensin Ⅱ, Ang Ⅱ)作为一种强烈的促有丝分裂原, 也能够刺激HSC的活化与增殖, 但是具体的作用机制尚不十分清楚.

■同行评议者
高润平, 教授, 吉林大学第一医院肝胆胰内科; 姚鹏, 副教授, 北京军区总医院全军肝病中心

结果: Western blot结果显示不同浓度的AngⅡ(10^{-8}、10^{-7}、10^{-6} moL/L)作用24 h后, HSC p38 MAPK的相对含量明显增高(0.45±0.052, 0.61±0.026, 0.87±0.032), 与正常对照组(0.27±0.020)相比具有统计学差异(P<0.0005). 与正常对照组相比, 10^{-6} moL/L AngⅡ作用24 h后能够明显促进HSC增殖(0.1073±0.0093 *vs* 0.5233±0.0240, P<0.0005); 促进TGF-β1分泌(10.6 ng/mL±0.98 ng/mL *vs* 100.8 ng/mL±3.67 ng/mL, P<0.0005); 促进α1(Ⅰ)、α1(Ⅳ)Col mRNA表达(1.13±0.053 *vs* 3.74±0.047; 1.35±0.035 *vs* 4.07±0.072, P<0.0005). 但当加入SB203580预先阻断p38 MAPK活性后, AngⅡ引起的上述作用明显减弱(0.2033±0.0176 *vs* 0.5233±0.0240; 21.07 ng/mL±2.08 ng/mL *vs* 100.8 ng/mL±3.67 ng/mL; 1.16±0.024 *vs* 3.74±0.047; 1.56±0.075 *vs* 4.07±0.072, P<0.0005).

结论: AngⅡ通过p38 MAPK通路促进HSC增殖和TGF-β1分泌.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 血管紧张素Ⅱ; p38丝裂原活化蛋白激酶; 肝星状细胞; 肝纤维化

核心提示: 血管紧张素Ⅱ(angiotensin Ⅱ, AngⅡ)能够促进肝星状细胞(hepatic stellate cell)增殖, 增加转化生长因子-β1(transforming growth factor-β1)以及α1(Ⅰ)、α1(Ⅳ)型胶原表达. p38丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinases, p38 MAPK)抑制剂SB203580能够拮抗AngⅡ的上述作用, 提示p38 MAPK通路是AngⅡ促进肝纤维化发生的重要信号传导通路.

崔巍, 邵臻, 傅宝玉. p38 MAPK介导血管紧张素Ⅱ的促肝星状细胞增殖作用. 世界华人消化杂志 2013; 21(14): 1309-1314
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1309.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i14.1309

0 引言

肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)的活化和增殖是肝纤维化形成的关键环节. 目前研究已证实, 血管紧张素Ⅱ(angiotensin Ⅱ, AngⅡ)能够刺激HSC活化、增殖, 促进胶原合成, 并且这一作用与转化生长因子-β1(transforming growth factor-β1, TGF-β1)密切相关[1-3], 但是具体的作用机制尚不十分清楚. AngⅡ若想发挥作用, 必须首先与HSC膜上的相应受体结合. AngⅡ的受体主要有AT1R、AT2R2种亚型, 现有研究表明AT1R是介导AngⅡ调控HSC功能的主要受体[4]. 近年来对AT1R介导的信号途径有了一些新的认识, 丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)途径可能发挥重要作用[5]. 为了明确AngⅡ调控HSC功能的受体后信号机制, 我们检测了AngⅡ对HSC细胞内TGF-β1、p38 MAPK表达的影响, 并应用p38 MAPK抑制剂进一步明确该信号通路在AngⅡ调控HSC功能中的作用.

■研发前沿
关于AngⅡ调控HSC增殖的热点主要集中在相应的信号通路研究, 尤其是近年来提出了ACE-AngⅡ-AT1R受体轴与ACE2-Ang(1-7)-Mas受体轴相互拮抗学说. 有哪些信号途径参与了AngⅡ的促纤维化作用, 临床应用AngⅡ及其相关信号分子拮抗剂是否能够阻断肝纤维化的发生, 是目前亟待解决的问题.

■相关报道
杨玲等应用体外培养HSC, 在不同浓度的ANGⅡ作用下, 观察HSC的生长增殖情况以及对细胞迁移的影响. 结果发现ANGⅡ能够促进HSC增殖, 并且诱导HSC迁移, 认为这是ANGⅡ促进肝纤维化发生的主要原因.

1 材料和方法

1.1 材料 AngⅡ购自美国Sigma公司; TGF-β1与ELISA试剂盒购自上海轩昊科技发展有限公司; 兔抗p38 MAPK多克隆抗体购自美国Promega公司; SB203580购自美国Sigma公司; RT-PCR试剂盒购自大连宝生物工程有限公司; T7体外转录试剂盒购自大连宝生物工程有限公司; Real-time quantitive PCR试剂盒购自大连宝生物工程有限公司; 辣根过氧化物酶标记的羊抗兔IgG抗体购自美国Santa Cruz公司.

1.2 方法

1.2.1 HSC细胞分离、培养: 参照宋少刚等[6]报道的方法分离HSC. 大鼠麻醉后行门静脉插管, 连续灌流0.1%链霉蛋白酶(15 min)及0.015%Ⅳ型胶原酶(40 min); 然后取下软化肝脏并剪碎, 用混合酶消化液(含链霉蛋白酶、Ⅳ型胶原酶及DNA酶Ⅰ)消化30 min, 过滤、离心、洗涤后的细胞悬液经18%Nycodenz(按Nycodenz∶细胞悬液 = 2∶1比例)密度梯度离心(1500 *g*, 20 min, 4 ℃), 吸取界面处的细胞悬浮于200 mL胎牛血清DMEM培养液中, 以1×10^6/mL的浓度接种在培养皿里, 在37 ℃、50 mL/L CO_2条件下进行培养, 10-14 d形成细胞单层后传代, 在传代过程中弃去贴壁牢固的未消化下来的细胞(多为枯否细胞), 由此纯化HSC. 本次实验采用传2-4代HSC, 待细胞生长融合至70%左右, 加入不同浓度的AngⅡ(0、10^{-8}、10^{-7}、10^{-6} moL/L)孵育24 h, 然后进行后续实验. 每种实验均选取3组非同代细胞进行.

1.2.2 上清液TGF-β1测定: 采用双抗体夹心ELISA方法进行检测. 细胞接种于96孔培养板内, 待细胞生长融合至70%左右, 换含50 mL/L血清培养液继续培养24 h, 加入含预定浓度的AngⅡ孵育24 h, 收集上清液-20 ℃冰冻保存待检. TGF-β1检测严格按照说明书进行: 简言之于相应反应板孔中加入100 μL标准品或100 μL标本, 37 ℃温育60 min; 洗涤5次; 然后每孔加入100 μL 1×Biotin, 37 ℃温育60 min; 洗涤5次; 再每孔加入100 μL 1×HRP, 37 ℃温育30 min; 洗涤5次;

最后每孔加入100 μL TMB显色液, 37 ℃暗处温育20 min, 加入终止液, 30 min内在全自动酶标仪上450 nm处读取*A*值.

1.2.3 p38 MAPK Western blot: (1)蛋白定量: 将已加入含预定浓度的AngⅡ孵育24 h后的细胞用冰PBS洗3遍, 加入Western蛋白裂解液(0.5 mL/5×10^6细胞)冰上裂解细胞20 min, 4 ℃离心12000 *g* 15 min, 取上清移入Eppendorf管内, 采用BCA法对蛋白样品进行定量; (2)免疫沉淀: 用PBS将定量后样品调成相同蛋白浓度(2 mg/mL); 取0.5 mL细胞裂解产物, 加入100 mL 50%Sepharose-4B protein G, 4 ℃轻摇30 min; 12000 *g* 4 ℃离心10 min, 取上清加入抗p38 MAPK抗体(1 mg/200 μg蛋白), 4 ℃轻摇孵育过夜; 再加入100 μL 50%Sepharose-4B protein G, 4 ℃轻摇120 min, 12 000 *g* 4 ℃离心5 s收集琼脂糖珠; 向琼脂糖珠中加入洗涤缓冲液800 μL, 4 ℃轻摇20 min; 反复洗涤3次, 离心收集琼脂糖珠, 加入2×SDS蛋白上样缓冲液60 μL, 沸水煮5 min, 离心收集上清; (3)Western blot: 取免疫沉淀后的上清20 μL进行8%SDS-PAGE凝胶电泳, 电压100 V, 150 min; 电泳后将蛋白转至PVDF膜上, 200 mA, 2 h; TBS洗5 min, 脱脂奶粉封闭2 h, TTBS洗5 min×2, 加入多克隆兔抗p38 MAPK抗体(1∶1000)4 ℃过夜, TTBS洗5 min×3, 加入辣根过氧化物酶标记的羊抗兔-IgG抗体(1∶10000)室温2 h, TTBS洗5 min×3, ECL显色. 结果应用天能图像分析系统进行分析, 以对照组p38 MAPK含量为1, 其他组与之比较.

1.2.4 p38 MAPK抑制剂SB203580对HSC增殖、TGF-β1、α1(Ⅰ)、α1(Ⅳ)型胶原表达的影响: 生长良好的HSC细胞分为3组, 一组加入不含AngⅡ的DMEM培养液; 一组加入含10^{-6} mol/L AngⅡ的DMEM培养液; 最后一组应用含5 μmol/L SB203580的DMEM培养液孵育30 min后, 再加入10^{-6} mol/L AngⅡ, 细胞继续培养24 h后, 检测上清液TGF-β1含量, 并应用MTT法检测HSC增殖, 实时定量PCR方法检测HSC细胞内α1(Ⅰ)、α1(Ⅳ)型胶原mRNA的表达情况.

统计学处理 应用SPSS13.0软件进行统计学分析. 所有数据均以mean±SD表示, 采用单因素方差分析(AVONA)的LSD方法对各组间数据进行比较.

2 结果

2.1 AngⅡ促进HSC分泌TGF-β1 正常情况下, HSC细胞能够分泌较低浓度的TGF-β1(10.6 ng/mL±0.98 ng/mL), 加入10^{-8}、10^{-7}、10^{-6} moL/L AngⅡ刺激后, TGF-β1浓度明显升高, 分别达(39.8 ng/mL±5.12 ng/mL, 77.4 ng/mL±1.88 ng/mL,100.8 ng/mL±3.67 ng/mL), 与对照组相比差异具有统计学意义(*P*<0.0005)(图1).

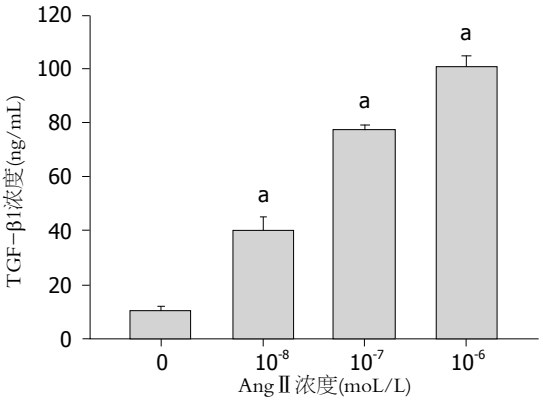


图 1 不同浓度AngⅡ对TGF-β1的影响. 随着AngⅡ浓度的升高, 肝星状细胞上清液中TGF-β1的含量也逐渐增加, ^aP<0.0005 *vs* 0 moL/L. AngⅡ: 血管紧张素Ⅱ; TGF-β: 转化生长因子-β.

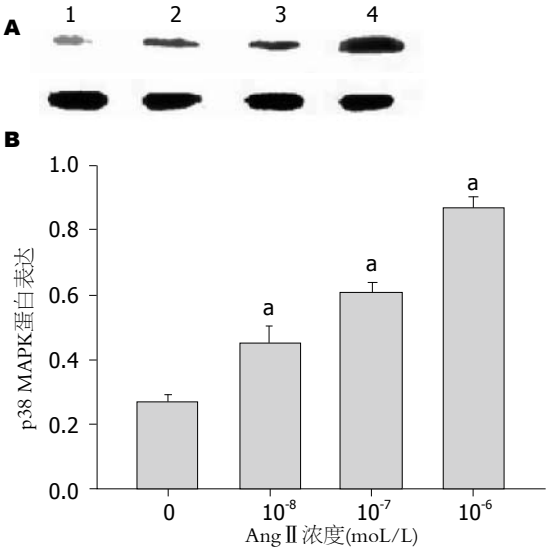


图 2 AngⅡ对p38 MAPK蛋白表达的影响. A: 不同浓度AngⅡ作用24 h后p38 MAPK Western blot结果, 可见在38 kDa处存在特异性蛋白条带; 1: 对照组, 2: 10^{-8} moL/L AngⅡ组, 3: 10^{-7} moL/L AngⅡ组, 4: 10^{-6} moL/L AngⅡ组; B: 半定量分析结果, 可见随着AngⅡ浓度的增加, p38 MAPK蛋白的相对含量逐渐增加, ^aP<0.0005 *vs* 0 moL/L. AngⅡ: 血管紧张素Ⅱ; p38 MAPK: p38丝裂原活化蛋白激酶.

2.2 AngⅡ促进HSC表达p38 MAPK Western blot结果显示p38丝裂原活化蛋白激酶(p38 MAPK)在38 kDa处存在特异性蛋白条带. 对各条带进行半定量分析发现, 10^{-8}、10^{-7}、10^{-6} moL/L AngⅡ作用24 h后, p38 MAPK蛋白的相对含量分别为(0.45±0.052, 0.61±0.026, 0.87±0.032), 与正常对照组(0.27±0.020)相比具有明显的统计学差异(*P*<0.0005)(图2).

■创新盘点

目前国内关于AngⅡ促进肝纤维化的研究多缺乏分子水平的深入研究, 国外对AngⅡ促进肝纤维化的受体后信号通路有所涉猎. 本文重点研究了途径在AngⅡ促进HSC活化增殖以及促进转化生长因子-β1(transforming growth factor-β1, TGF-β1)、α1(Ⅰ)、α1(Ⅳ)型胶原表达中的作用, 为临床抗纤维化治疗提供更多的靶点.

■应用要点

本文发现p38 MAPK是AngⅡ促进HSC活化增殖的重要信号分子. 据此可开发相应信号分子拮抗制剂或基因产品应用于临床, 抑制肝纤维化的形成和进展.

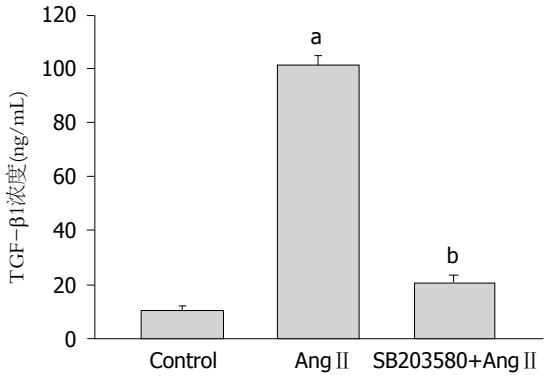


图3 p38 MAPK抑制剂SB203580对AngⅡ增加TGF-β1浓度的影响. $^{a}P<0.0005$ *vs* 正常对照组, $^{b}P<0.0005$ *vs* 10^{-6} moL/L AngⅡ组. AngⅡ: 血管紧张素Ⅱ; p38 MAPK: p38丝裂原活化蛋白激酶; TGF-β: 转化生长因子-β.

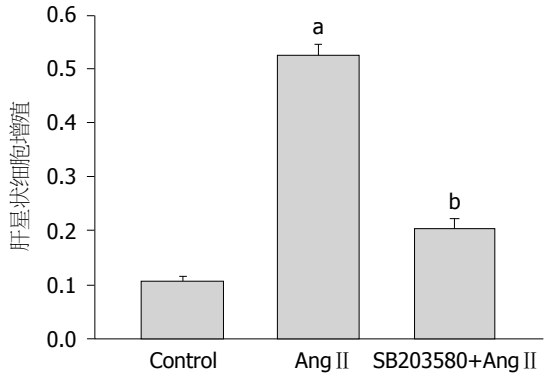


图4 p38 MAPK抑制剂SB203580对AngⅡ促进肝星状细胞增殖的影响. $^{a}P<0.0005$ *vs* 正常对照组, $^{b}P<0.0005$ *vs* 10^{-6} moL/L AngⅡ组. AngⅡ: 血管紧张素Ⅱ; p38 MAPK: p38丝裂原活化蛋白激酶.

2.3 p38 MAPK抑制剂SB203580可以阻断AngⅡ引起的TGF-β1表达上调 与正常对照组(10.6 ng/mL±0.98 ng/mL)相比, 10^{-6} moL/L AngⅡ作用24 h后能够明显促进HSC细胞分泌TGF-β1(100.8 ng/mL±3.67 ng/mL), 两者相比差异具有统计学意义($P<0.0005$); 加入SB203580预先阻断p38 MAPK活性后, AngⅡ引起的HSC分泌TGF-β1浓度明显下降(21.07 ng/mL±2.08 ng/mL), 与未加入SB203580相比差异具有统计学意义($P<0.0005$). 说明p38 MAPK是TGF-β1的上游信号分子(图3).

2.4 p38 MAPK抑制剂SB203580可以阻断AngⅡ引起的HSC增殖 与正常对照组(0.1073±0.0093)相比, 10^{-6} moL/L AngⅡ作用24 h后能够明显促进HSC增殖(0.5233±0.0240, $P<0.0005$); 加入SB203580预先阻断p38 MAPK通路后, AngⅡ引起的促HSC增殖作用明显下降(0.2033±0.0176), 与未加入SB203580相比有明显的统计学差异($P<0.0005$). 说明AngⅡ的促HSC增殖作用是通过p38 MAPK通路介导的(图4).

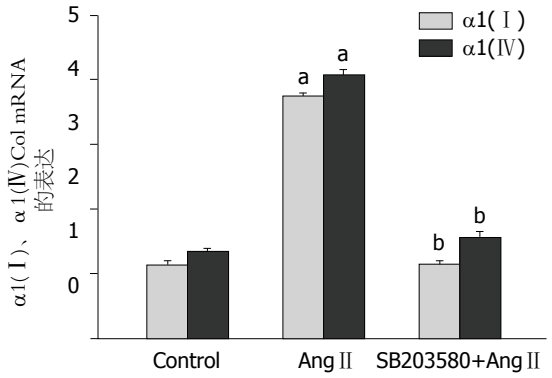


图5 p38 MAPK抑制剂SB203580对AngⅡ促进肝星状细胞α1(Ⅰ)、α1(Ⅳ)Col mRNA表达的影响. p38 MAPK抑制剂SB203580能够阻断AngⅡ引起的α1(Ⅰ)和α1(Ⅳ)Col mRNA表达增加, $^{a}P<0.0005$ *vs* 正常对照组, $^{b}P<0.0005$ *vs* 10^{-6} moL/L AngⅡ组. AngⅡ: 血管紧张素Ⅱ; p38 MAPK: p38丝裂原活化蛋白激酶.

2.5 p38 MAPK抑制剂SB203580可以阻断AngⅡ引起的HSCα1(Ⅰ)、α1(Ⅳ)型胶原mRNA表达增加 以*GAPDH*基因为参照物, 对α1(Ⅰ)、α1(Ⅳ)Col基因进行定量分析结果发现: 10^{-6} moL/L AngⅡ作用24 h后, α1(Ⅰ)、α1(Ⅳ)Col mRNA为(3.74±0.047, 4.07±0.072), 明显高于正常对照组(1.13±0.053,1.35±0.035), 两者比较差异具有统计学意义($P<0.0005$); 加入SB203580预先抑制p38 MAPK活性后, α1(Ⅰ)、α1(Ⅳ)Col mRNA为(1.16±0.024, 1.56±0.075), 明显低于未加入SB203580组($P<0.0005$). 这些结果提示AngⅡ上调HSCα1(Ⅰ)、α1(Ⅳ)Col mRNA表达需要p38 MAPK的作用(图5).

3 讨论

肝纤维化的形成机制中, HSC活化是公认的中心环节. 其活化后向肌成纤维细胞转变, 可分泌大量细胞外基质成分, 包括Ⅰ、Ⅲ型胶原、透明质酸和层黏连蛋白, 同时使胶原酶活性下降, 胶原降解减少, 造成细胞外基质产生与降解失平衡, 纤维化形成[7]. HSC活化和增殖与多种细胞因子有关, 比较重要的有TGF-β和血小板源性生长因子[8]. 近年来研究表明肝纤维化时血清和肝组织局部的AngⅡ水平明显升高, 与肝纤维化程度密切相关[9], 而且HSC细胞表面表达AngⅡ受体AT1R[10], 这些证据提示AngⅡ具有促进HSC活化和增殖的作用.

我们前期在酒精性肝纤维化的动物实验中亦发现[9], 肝内存在局部肾素-血管紧张素-醛固酮系统, 肝纤维化进程中肝内AngⅡ明显

升高, 并且血管紧张素转换酶抑制剂类药物可以阻止酒精性肝纤维化的进展, 这些结果说明AngⅡ是重要的促纤维化因子. 进一步我们发现AngⅡ可以促进离体的HSC活化、增殖, 合成和分泌胶原增加, 提示HSC是AngⅡ作用的靶细胞. 本文中我们进一步明确AngⅡ调控HSC功能的信号通路, 以期为基因治疗提供靶位点.

目前关于AngⅡ调节HSC功能的机制已经有了一定的认识, 认为AngⅡ的促HSC增殖作用依赖于TGF-β1[11-14]. 这一观点有下列证据: (1)AngⅡ可以直接刺激体外培养的血管平滑肌细胞、心肌细胞表达TGF-β1, 给离体肾脏灌注AngⅡ也可以明显增强TGF-β1的产生和活性, 其后发现AngⅡ可以上调TGF-β1的mRNA在HSC内的表达[15]; (2)AngⅡ可以通过PA/PAI系统切掉潜活相关肽, 使潜活TGF-β1变成具有生物活性的TGF-β1; (3)AngⅡ可上调体外培养的血管平滑肌细胞TGF-β1受体的表达; (4)AngⅡ与TGF-β1可互相调节彼此的表达, TGF-β1能引起近肾小球细胞释放肾素, 进一步转化为AngⅡ又可促进TGF-β1的合成, 这是一种正反馈效应. 本实验中我们亦检测了AngⅡ对培养HSC细胞上清液中TGF-β1浓度的影响. 结果表明: 10^{-8} moL/L AngⅡ即可促进HSC分泌TGF-β1, 10^{-6} moL/L AngⅡ的这种作用更加明显, 提示TGF-β1是AngⅡ调控HSC细胞功能的下游效应分子.

AngⅡ发挥作用必须首先与HSC细胞膜上的受体结合, 现已证实AT1R为HSC细胞膜上表达的AngⅡ受体. 那么AngⅡ与HSC细胞膜上的AT1R结合后, 是通过哪种信号分子促进HSC合成TGF-β1的尚不清楚. AT1R的受体后信号通路涉及MAPK, 因此我们检测了AngⅡ对体外培养的HSC细胞内p38 MAPK蛋白表达的影响, 并应用p38 MAPK特异性阻断剂SB203580验证p38 MAPK在AngⅡ调节HSC细胞功能中的作用.

结果表明: 10^{-8} moL/L AngⅡ即可促进HSC细胞表达p38 MAPK蛋白, 10^{-6} moL/L AngⅡ的这种作用更加明显, 提示p38 MAPK可能在AngⅡ调节HSC细胞功能方面发挥作用. 进一步应用p38 MAPK抑制剂SB203580预先阻断p38 MAPK活性, 结果表明: SB203580能够明显抑制AngⅡ引起的促HSC增殖作用, 降低α1(Ⅰ)、α1(Ⅳ)型胶原mRNA的表达, 并且由AngⅡ引起的促HSC分泌TGF-β1作用亦可被SB203580阻断. 这些结果说明AngⅡ通过p38 MAPK通路促进HSC分泌TGF-β1, 进而增加HSC活化以及细胞外基质合成.

4 参考文献

1 Grace JA, Herath CB, Mak KY, Burrell LM, Angus PW. Update on new aspects of the renin-angiotensin system in liver disease: clinical implications and new therapeutic options. *Clin Sci* (Lond) 2012; 123: 225-239 [PMID: 22548407 DOI: 10.1042/CS20120030]

2 Pereira RM, dos Santos RA, da Costa Dias FL, Teixeira MM, Simões e Silva AC. Renin-angiotensin system in the pathogenesis of liver fibrosis. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 2579-2586 [PMID: 19496186 DOI: 10.3748/wjg.15.2579]

3 Yu FJ, Dong PH, Fan XF, Lin Z, Chen YP, Li J. Down-regulation of angiotensin II by shRNA reduces collagen synthesis in hepatic stellate cells. *Int J Mol Med* 2010; 25: 801-806 [PMID: 20372825]

4 Kato J, Koda M, Kishina M, Tokunaga S, Matono T, Sugihara T, Ueki M, Murawaki Y. Therapeutic effects of angiotensin II type 1 receptor blocker, irbesartan, on non-alcoholic steatohepatitis using FLS-ob/ob male mice. *Int J Mol Med* 2012; 30: 107-113 [PMID: 22469867 DOI: 10.3892/ijmm.2012.958]

5 Moreno M, Bataller R. Cytokines and renin-angiotensin system signaling in hepatic fibrosis. *Clin Liver Dis* 2008; 12: 825-852, ix [PMID: 18984469 DOI: 10.1016/j.cld.2008.07.013]

6 宋少刚, 杨雁, 陈敏珠. 大鼠肝贮脂细胞、枯否细胞的同时分离和培养. 中国临床药理学与治疗学 2000: 5: 351-353

7 Iwaisako K, Brenner DA, Kisseleva T. What's new in liver fibrosis? The origin of myofibroblasts in liver fibrosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27 Suppl 2: 65-68 [PMID: 22320919 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.07002.x]

8 Wu MS, Liao CW, Du WY, Kao TC, Su KE, Lin YH, Chang CC, Fan CK. Enhanced expression of transforming growth factor-beta 1 in inflammatory cells, alpha-smooth muscle actin in stellate cells, and collagen accumulation in experimental granulomatous hepatitis caused by Toxocara canis in mice. *Acta Trop* 2008; 105: 260-268 [PMID: 18178169 DOI: 10.1016/j.actatropica.2007.11.005]

9 于继红, 陈玉帅, 林红, 傅宝玉. 血管紧张素Ⅱ在大鼠酒精性肝纤维化发病机制中的作用. 世界华人消化杂志 2008; 16: 3492-3497

10 Lu P, Liu H, Yin H, Yang L. Expression of angiotensinogen during hepatic fibrogenesis and its effect on hepatic stellate cells. *Med Sci Monit* 2011; 17: BR248-BR256 [PMID: 21873937 DOI: 10.12659/MSM.881928]

11 Oka T, Komuro I. [Molecular and cellular mechanisms of organ fibrosis]. *Nihon Rinsho* 2012; 70: 1510-1516 [PMID: 23012796]

12 Rosin NL, Falkenham A, Sopel MJ, Lee TD, Légaré JF. Regulation and role of connective tissue growth factor in AngII-induced myocardial fibrosis. *Am J Pathol* 2013; 182: 714-726 [PMID: 23287510 DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.11.014]

13 Chou CH, Chuang LY, Lu CY, Guh JY. Interaction between TGF-β and ACE2-Ang-(1-7)-Mas pathway in high glucose-cultured NRK-52E cells. *Mol Cell Endocrinol* 2013; 366: 21-30 [PMID: 23174757 DOI: 10.1016/j.mce.2012.11.004]

■名词解释

丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinases, p38 MAPK): 生物体内重要的信号转导系统之一, 参与介导生长、发育、分裂、分化、死亡以及细胞间的功能同步等多种细胞过程. 在哺乳动物细胞中已发现和克隆了ERK、JNK/SAPK、p38/RK、ERK5/BMK1 4个MAPK亚族. p38 MAPK是MAPK家族的重要组成部分.

■同行评价
本文通过检测AngⅡ对HSC细胞内TGF-β1、p38 MAPK表达的影响, 并应用p38 MAPK抑制剂进一步明确该信号通路在AngⅡ调控HSC功能中的作用, 具有一定的新颖性, 具有一定指导意义.

14 Hidaka H, Nakazawa T, Shibuya A, Minamino T, Takada J, Tanaka Y, Okuwaki Y, Watanabe M, Koizumi W. Effects of 1-year administration of olmesartan on portal pressure and TGF-beta1 in selected patients with cirrhosis: a randomized controlled trial. *J Gastroenterol* 2011; 46: 1316-1323 [PMID: 21850387 DOI: 10.1007/s00535-011-0449-z]

15 Moreno-Alvarez P, Sosa-Garrocho M, Briones-Orta MA, González-Espinosa C, Medina-Tamayo J, Molina-Jijón E, Pedraza-Chaverri J, Macías-Silva M. Angiotensin II increases mRNA levels of all TGF-beta isoforms in quiescent and activated rat hepatic stellate cells. *Cell Biol Int* 2010; 34: 969-978 [PMID: 20557291 DOI: 10.1042/CBI20090074]

编辑 田滢 电编 闫晋利

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》修回稿须知

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

1 修回稿信件

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

2 稿件修改

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

3 版权

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

世界华人消化杂志 2013年5月18日; 21(14): 1315-1320
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

血清和胃液PⅢNP、LN在胃癌辅助诊断中的价值

高 源, 洪汝涛

高源, 洪汝涛, 安徽医科大学第一附属医院消化内科 安徽省合肥市 230022
高源, 主要从事消化内科的相关研究.
作者贡献分布: 本课题的设计、胃液的收集、检测及论文的写作等由高源完成; 洪汝涛指导.
通讯作者: 洪汝涛, 主任医师, 230022, 安徽省合肥市蜀山区绩溪路218号, 安徽医科大学第一附属医院消化内科.
hongrutaoah@yahoo.cn
收稿日期: 2012-12-03 修回日期: 2013-04-08
接受日期: 2013-04-12 在线出版日期: 2013-05-18

Laminin and procollagen Ⅲ N-terminal peptide in serum and gastric juice as potential tumor markers for gastric cancer

Yuan Gao, Ru-Tao Hong

Yuan Gao, Ru-Tao Hong, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022, Anhui Province, China
Correspondence to: Ru-Tao Hong, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, 218 Jixi Road, Shushan District, Hefei 230022, Anhui Province, China. hongrutaoah@yahoo.cn
Received: 2012-12-03 Revised: 2013-04-08
Accepted: 2013-04-12 Published online: 2013-05-18

Abstract

AIM: To investigate the clinical significance of laminin (LN) and procollagen Ⅲ N-terminal peptide (PⅢNP) levels in serum and gastric juice in the diagnosis of gastric cancer.

METHODS: Fifty patients with gastric cancer, 25 patients with gastric precancerous lesions, and 46 patients with mild superficial gastritis were included in this study. The levels of PⅢNP and LN in gastric juice and serum were determined by radioimmunoassay and compared among different groups of patients.

RESULTS: The levels of PⅢNP in gastric juice and serum were significantly higher in patients with gastric cancer than in those with precancerous lesion or mild superficial gastritis (gastric juice: 40.49 μg/L ± 39.07 μg/L *vs* 8.49 μg/L ± 5.45 μg/L, 7.38 μg/L ± 6.13 μg/L, both $P < 0.01$; serum: 55.38 μg/L ± 25.13 μg/L *vs* 41.56 μg/L ± 18.27 μg/L, 39.89 μg/L ± 13.07 μg/L, both $P < 0.05$). The levels of LN in gastric juice were significantly higher in patients with gastric cancer than in patients with precancerous lesion or mild superficial gastritis (131.61 ng/mL ± 55.71 ng/mL *vs* 90.92 ng/mL ± 58.36 ng/mL, 80.65 ng/mL ± 59.43 ng/mL, $P < 0.05$, $P < 0.01$), and the levels of LN in serum were significantly higher in patients with gastric cancer than in patients with mild superficial gastritis (158.62 ng/mL ± 42.70 ng/mL *vs* 126.25 ng/mL ± 36.18 ng/mL, both $P < 0.01$). The sensitivity of PⅢNP and LN in gastric juice for the diagnosis of gastric cancer was 68.00% and 66.00%, respectively, and the sensitivity of combined detection of PⅢNP and LN was 86.00%. The levels of LN and PⅢNP in serum and gastric juice were higher in gastric cancer patients with lymph node metastasis than in those without metastasis. The levels of PⅢNP and LN were related to histologic grade of carcinoma, and patients with poorly differentiated adenocarcinoma had higher levels of PⅢNP and LN in serum and gastric juice than those with well differentiated adenocarcinoma.

CONCLUSION: The levels of LN and PⅢNP in serum and gastric juice can be considered as an adjunct in the diagnosis of gastric cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; Gastric juice; Serum; Procollagen Ⅲ N-terminal peptide; Laminin

Gao Y, Hong RT. Laminin and procollagen Ⅲ N-terminal peptide in serum and gastric juice as potential tumor markers for gastric cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(14): 1315-1320 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1315.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i14.1315

摘要

目的: 探讨胃液、血清中层黏连蛋白(laminin, LN)、Ⅲ型前胶原氨端(N-terminal procollagen Ⅲ peptide, PⅢNP)含量的检测在胃癌辅助诊断中的价值.

■背景资料
基底膜(basement membrane, BM)和细胞外基质(extracellular matrix, ECM)作为胃癌浸润的第1道屏障, 在胃癌活动的过程中必然受到不同程度的破坏. 层黏连蛋白(laminin, LN)和PⅢNP与ECM、BM关系密切, 也必然表现出一定的变化, 而这一变化可动态地反映胃癌的活动. 有文献报道血清中LN和Ⅲ型前胶原氨端(N-terminal procollagen Ⅲ peptide, PⅢNP)在胃癌辅助诊断中的价值, 但目前尚缺乏胃癌、癌前病变患者胃液中LN和PⅢNP的相关资料.

■同行评议者
葛海燕, 教授, 同济大学附属第十人民医院普通外科

■研发前沿
肿瘤标志物在血清中含量的高低一方面取决于生成的量, 另一方面也取决于机体代谢的快慢. 而胃液中这些胃癌标志物不需要通过一系列代谢, 所以能较直观地反映胃部的病变, 因此, 胃液中某些成分可能作为胃癌筛查较为特异性的肿瘤标志物, 加之胃液的检查较胃镜较为简便经济, 近几年关于胃液方面的研究越来越多.

方法: 采用放射免疫法测定50例胃癌患者、25例癌前病变患者胃液和血清中PⅢNP和LN含量, 以46例浅表性胃炎患者作为对照.

结果: 胃癌组患者胃液中PⅢNP含量显著高于癌前病变组和对照组(40.49 μg/L±39.07 μg/L *vs* 8.49 μg/L±5.45 μg/L, 7.38 μg/L±6.13 μg/L, 均P<0.01), LN的水平也显著高于癌前病变组和对照组(131.61 ng/mL±55.71 ng/mL *vs* 90.92 ng/mL±58.36 ng/mL, 80.65 ng/mL±59.43 ng/mL, P<0.05; P<0.01); 胃癌组血清中PⅢNP含量明显高于癌前病变组和对照组(55.38 μg/L±25.13 μg/L *vs* 41.56 μg/L±18.27 μg/L, 39.89 μg/L±13.07 μg/L, 均P<0.05), LN的水平亦显著高于对照组(158.62 ng/mL±42.70 ng/mL *vs* 126.25 ng/mL±36.18 ng/mL, P<0.01). 胃液PⅢNP和LN单独检测对胃癌诊断的敏感性分别为68.00%、66.00%, 二者联合检测其敏感性为86.00%. 进一步分析显示, 伴有淋巴结或器官转移的患者胃液和血清中PⅢNP和LN水平高于不伴有转移的患者; PⅢNP和LN水平与病理分级相关, 低分化腺癌患者胃液、血清中PⅢNP和LN含量高于高分化腺癌患者.

结论: 胃液及血清PⅢNP和LN含量的检测在胃癌的辅助诊断中有一定临床价值.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 胃癌; 胃液; 血清; Ⅲ型前胶原氨端肽; 层黏连蛋白

核心提示: 联合检测胃液中Ⅲ型前胶原氨端(N-terminal procollagen Ⅲ peptide)和层黏连蛋白(laminin, LN)含量可提高对胃癌诊断的敏感性, 故可用于胃癌的筛查. 同时, 由于这两项标志物与肿瘤的浸润、分化、转移之间有一定的联系, 故对研究胃癌的活动有一定的指示意义.

高源, 洪汝涛. 血清和胃液PⅢNP、LN在胃癌辅助诊断中的价值. 世界华人消化杂志 2013; 21(14): 1315-1320 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1315.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i14.1315

0 引言

层黏连蛋白(laminin, LN)主要存在于基底膜结构中, 是基底膜主要成分[1]. Ⅲ型前胶原氨端(N-terminal procollagen Ⅲ peptide, PⅢNP)是由分泌到细胞外的Ⅲ型前胶原在向Ⅲ型胶原转化的过程中经氨基端肽酶裂解所产生的氨基端多肽[2]. LN和PⅢNP在临床上常用于肝纤维化的评估, 有文献报道血清中LN和PⅢNP在胃癌辅助诊断和预后中的价值, 但目前尚缺乏胃癌、癌前病变患者胃液中LN和PⅢNP的相关资料. 为此, 我们联合检测胃癌、癌前病变患者胃液、血清中LN和PⅢNP水平, 以浅表性胃炎患者作为对照, 以探讨这两种标志物在胃癌辅助诊断中的意义.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2011-09/2012-01就诊于我院消化科门诊的患者, 胃镜结合病理证实为胃癌或癌前病变(包括萎缩性胃炎、不典型增生和肠上皮化生), 且在胃镜检查前均未接受内镜治疗、外科手术、放疗、化疗、生物疗法等相关治疗. 对照组选择为有轻微的消化系症状, 胃镜显示浅表性胃炎者. 对于有肿瘤病史、上消化道出血、慢性肝病、慢性炎症性疾病(如关节炎等)患者均被排除. 最后共121例入组, 分别为50例胃癌患者, 男42例, 女8例, 年龄为35-80岁(61.02岁±13.36岁); 25例癌前病变患者, 男11例, 女14例, 年龄为45-76岁(60.57岁±7.23岁); 46例浅表性胃炎患者, 男18例, 女28例, 年龄为25-65岁(40.35岁±20.57岁).

1.2 方法

1.2.1 抽样: 受检者于清晨空腹时接受胃镜检查. 操作者经胃镜的活检孔吸取胃液5 mL, 并立即放入一次性离心管中. 剔除混有血液或胆汁的标本. 用精确pH试纸测量胃液的pH值, 然后用1 mol/L的NaOH将其pH调整至7-8之间. 胃镜检查后, 收集患者静脉血5 mL. 胃液和血液标本经3000 r/min离心10 min后取上清液并存于-80 ℃冰箱待测.

1.2.2 LN和PⅢNP含量的测量: 采用放射性免疫法测定胃液和血清中LN和PⅢNP含量, 试剂盒由北京北方生物技术研究所提供, ^{125}I标记, 所有标本均由我院核医学科同一专业人员用同一批次试剂严格按说明书检测.

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件分析, 计量资料以mean±SD表示. 3组数据进行比较时, 采用方差分析, 若方差是齐性时应用LSD法, 方差不齐时应用Dunnett's T3检验. 两组间的比较用t检验. 变量间相关性分析采用Pearson相关分析. P<0.05视为有统计学意义.

2 结果

2.1 胃液中PⅢNP和LN含量 胃癌组PⅢNP含量

表 1 各组胃液中Ⅲ型前胶原氨端和层黏连蛋白的含量 (mean ± SD)

分组	*n*	Ⅲ型前胶原氨端(μg/L)	层黏连蛋白(ng/mL)
胃癌组	50	40.49 ± 39.07	131.61 ± 55.71
癌前病变组	25	8.49 ± 5.45[b]	90.92 ± 58.36[a]
对照组	46	7.38 ± 6.13[b]	80.65 ± 59.43[b]

[a]*P*<0.05, [b]*P*<0.01 *vs* 胃癌组.

表 2 各组血清中Ⅲ型前胶原氨端和层黏连蛋白的含量 (mean ± SD)

分组	*n*	Ⅲ型前胶原氨端 (μg/L)	层黏连蛋白(ng/mL)
胃癌组	50	55.38 ± 25.13	158.62 ± 42.70
癌前病变组	25	41.56 ± 18.27[a]	150.03 ± 25.68
对照组	46	39.89 ± 13.07[a]	126.25 ± 36.18[b]

[a]*P*<0.05, [b]*P*<0.01 *vs* 胃癌组.

表 3 胃液PⅢNP和LN检测对胃癌的敏感性和特异性的比较(%)

项目	PⅢNP	LN	PⅢNP+LN
敏感性	68.00	66.00	86.00[a]
特异性	86.96	76.09	60.12

[a]*P*<0.05 *vs* 单独检测. PⅢNP: Ⅲ型前胶原氨端; LN: 层黏连蛋白.

明显高于癌前病变组和对照组(均*P*<0.01); 胃癌组LN水平也显著高于癌前病变组和对照组(分别为*P*<0.05; *P*<0.01); 癌前病变组和对照组之间的差异无统计学意义(*P*>0.05)(表1).

2.2 血清中PⅢNP和LN水平 胃癌组PⅢNP含量明显高于癌前病变组和对照组(均*P*<0.05); 胃癌组LN的水平也显著高于对照组(*P*<0.01), 但LN水平在胃癌组和癌前病变组中尚未见显著差异, 癌前病变组和对照组差异亦无统计学意义(*P*>0.05)(表2).

2.3 胃液和血清中PⅢNP和LN的比较 无论是在胃癌组、癌前病变组还是对照组, 血清中PⅢNP和LN的水平均高于胃液(均*P*<0.05)(图1, 2). 以对照组总体均数的95%可信区间上限作为阳性, 确定血清和胃液PⅢNP和LN阳性参考阈值, 计算出胃液中PⅢNP和LN浓度分别为12.61 μg/L、98.30 ng/mL, 胃液PⅢNP和LN检测对胃癌的敏感性分别为68.00%和66.00%, 联合检测的敏感性比PⅢNP和LN单独检测有所提高, 差异具有统计学意义(*P*<0.05), 而特异性下降, 差异无统计学意义(*P*>0.05)(表3).

2.4 胃癌患者胃液中PⅢNP、LN水平与血清中PⅢNP、LN水平之间的相关性分析 胃癌患者胃液中的PⅢNP水平与血清中PⅢNP水平呈正线性相关, Pearson相关系数为0.893, *P*<0.01(图3). 胃癌患者胃液中的LN水平与血清中LN水平亦呈正线性相关, Pearson相关系数为0.750, *P*<0.01(图4). 可见, 胃液中的PⅢNP、LN水平高者, 血清中PⅢNP、LN水平可能也随之升高.

2.5 胃癌组胃液中PⅢNP和LN水平与各种临床病理因素之间关系的分析 如表4所示, 伴有淋巴结或器官转移的患者胃液中PⅢNP和LN水平高于不伴有转移的患者. 同时PⅢNP和LN水平与病理分级相关, 低分化腺癌较高分化腺癌而言, PⅢNP和LN含量更高. 而这两种标志物与患者的年龄和性别之间未发现明显相关性. 表5显示了血清中PⅢNP和LN与以上因素之间的关系, 结果与胃液的检测结果相似, 血清中PⅢNP和LN水平也与肿瘤的病理分级和有无转移有关, 而与年龄、性别无明显关联.

3 讨论

基底膜(basement membrane)是肿瘤细胞入侵到达周围组织基质必须通过的屏障[3], 肿瘤细胞可能通过释放某些溶解细胞膜和细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的酶达到此目的, 而LN作为基底膜的主要成分[1], 可随着基底膜的降解而释放导致体内LN水平升高[4]. 同时, 肿瘤细胞可以产生LN和基底膜其他成分[5], 这也在一定程度解释了LN的升高. 有报道发现, LN的升高

■相关报道
Duraker曾对胃癌患者胃液中CA19-9和CEA进行了研究, 发现CA19-9和CEA水平的高低在胃癌的诊断和预后方面并无确切的价值, 而雷长喜等人认为CA19-9、CEA及CA72-4对胃癌诊断有指导价值, 且各标志物针对肿瘤的不同分型敏感性有所差异, 可见胃液中各肿瘤标志物的研究已成为热点.

■创新盘点

已有较多文献报道血清中LN和PⅢNP在胃癌辅助诊断中的价值, 但关于胃液中PⅢNP、LN含量和胃癌的关系未见报道. 为此, 我们联合检测血清和胃液中PⅢNP和LN含量以探讨其与胃癌的关系, 尤其是与胃癌的发生和各临床病理因素的相关性.

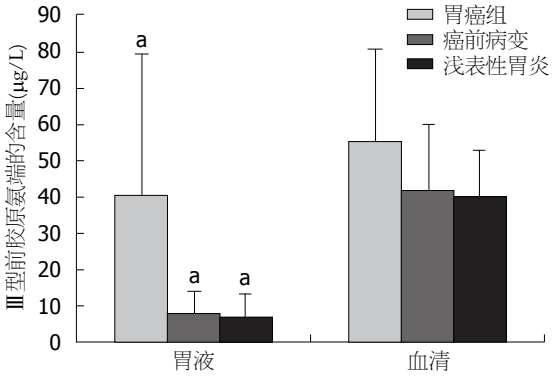


图 1 胃液和血清中Ⅲ型前胶原氨端含量的比较. $^aP<0.05$ *vs* 血清组.

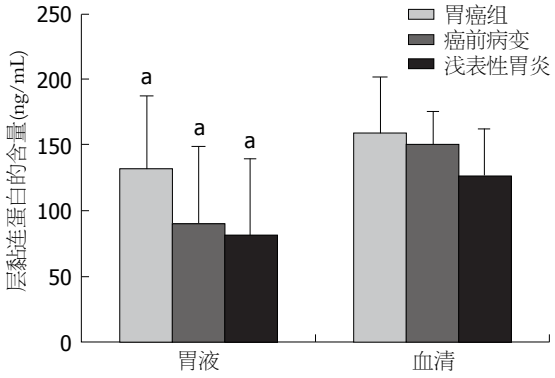


图 2 胃液和血清中层黏连蛋白含量的比较. $^aP<0.05$ *vs* 血清组.

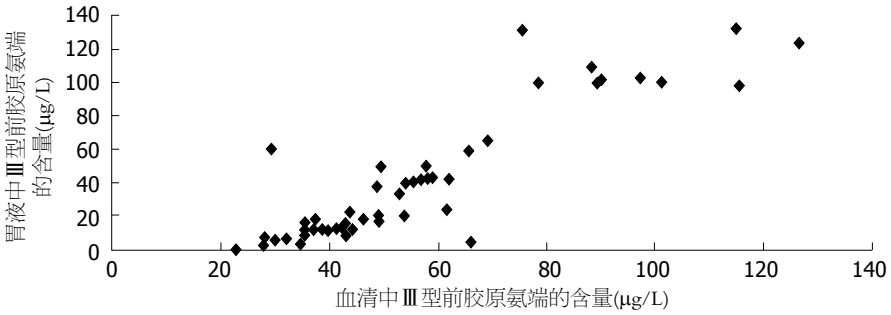


图 3 胃癌患者胃液中的Ⅲ型前胶原氨端水平与血清中Ⅲ型前胶原氨端水平的相关性.

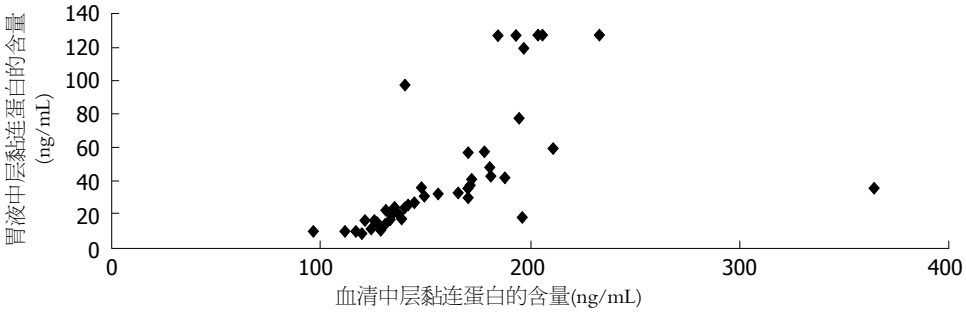


图 4 胃癌患者胃液中的层黏连蛋白水平与血清中层黏连蛋白水平的相关性.

不仅见于胃癌, 还可见于结肠癌、直肠癌、肝癌等多种恶性肿瘤, 并认为这与肿瘤的进展相关[6-8]. 肿瘤的转移需通过血管基底膜入血到达靶器官, 同时常常伴有大量新生血管的形成, 这些血管在肿瘤进展中起重要作用, 而LN作为血管基底膜的重要成分, 某种意义上参与了肿瘤的生长和转移[9]. Gao等[7]曾对胃癌患者血清中LN水平进行了分析, 发现伴有转移的患者LN水平高于无转移的患者, 这与我们的研究结果是一致的. 有报道显示, 肿瘤在手术切除后可引起体内LN水平的下降[10]. 因此, 考虑LN对评价肿瘤的发生、浸润及是否转移有一定的指导意义.

胶原是细胞外基质的主要组成部分, 在细胞黏附、迁移、血管生成、组织形态的维持及组织的生长和修复中起重要作用[11]. PⅢNP是由分泌到细胞外的Ⅲ型前胶原(PcⅢ)在向Ⅲ型胶原转化的过程中, 经内肽酶的作用, 被切去后直接释放入血. 因此, PⅢNP能特异地反映Ⅲ型胶原合成和降解情况, 是胶原纤维合成的间接标志[2]. 肿瘤进展过程中常常伴有胶原合成的增加, Kadler等[12]在胃癌组织中发现成纤维细胞数目有所增加, 且其水平与肿瘤的大小、浸润深度、转移及TNM分期呈正相关, 考虑其对胃癌预后可能有一定指导意义. 由于成纤维细胞是合成胶原的主要细胞, 而PⅢNP是胶原纤维合成的间接标志[2], 故不难解释肿瘤患者体内PⅢNP

表 4 胃癌组胃液中PⅢNP和LN水平与各种临床病理因素之间的关系 (mean ± SD)

临床特征	*n*	PⅢNP(μg/L)	*P*值	LN(ng/mL)	*P*值
年龄(岁)			0.406		0.869
<60	25	35.86 ± 35.57		130.30 ± 56.29	
≥60	25	45.16 ± 42.51		132.93 ± 56.25	
性别			0.409		0.276
男	42	38.48 ± 38.26		135.40 ± 56.76	
女	8	51.07 ± 44.27		111.77 ± 48.18	
病理分级			0.0001(低、中)		0.057(低、中)
			0.0001(低、高)		0.0001(低、高)
低分化	26	64.76 ± 44.22		156.34 ± 52.77	
中分化	11	21.24 ± 16.98		109.47 ± 50.90	
高分化	7	10.33 ± 6.47		75.18 ± 20.88	
有无转移			0.0001		0.004
有	23	65.90 ± 45.06		153.63 ± 52.23	
无	13	24.14 ± 15.73		99.31 ± 45.80	

PⅢNP: Ⅲ型前胶原氨端; LN: 层黏连蛋白.

表 5 胃癌组血清中PⅢNP和LN水平与各种临床病理因素之间的关系 (mean ± SD)

临床特征	*n*	PⅢNP(μg/L)	*P*值	LN(ng/mL)	*P*值
年龄(岁)			0.62		0.618
<60	25	57.18 ± 23.11		161.68 ± 51.85	
≥60	25	53.57 ± 27.37		155.78 ± 31.86	
性别			0.356		0.962
男	42	58.83 ± 26.09		158.49 ± 44.96	
女	8	47.78 ± 18.92		159.30 ± 30.38	
病理分级			0.044(低、中)		0.130(低、中)
			0.0001(低、高)		0.041(低、高)
低分化	26	66.95 ± 23.51		171.25 ± 48.51	
中分化	11	43.53 ± 24.58		147.44 ± 29.95	
高分化	7	35.36 ± 7.76		132.78 ± 35.32	
有无转移			0.045		0.027
有	23	66.63 ± 25.07		170.63 ± 50.60	
无	13	48.30 ± 21.74		135.63 ± 26.22	

PⅢNP: Ⅲ型前胶原氨端; LN: 层黏连蛋白.

水平的升高. Plebani也曾指出PⅢNP是细胞外基质合成的标志之一, 而肿瘤入侵首先便是侵犯细胞外基质, 这也一定程度上解释了PⅢNP浓度的升高. PⅢNP升高除了见于胃癌外, 还可见于其他多种恶性肿瘤如肝癌、乳腺癌、结肠癌、胰腺癌、肺癌等[13]. 我们的研究发现, 血清和胃液中PⅢNP含量的高低与胃癌有无转移有一定联系, Akazawa也曾通过实验证实, 当胃癌伴有转移时, 血清PⅢNP水平进一步升高, 其含量随着胃癌的临床分期的升高而升高, 晚期胃癌往往有更高的PⅢNP水平, 且血清中PⅢNP敏感性高于CEA和CA19-9, 三者联合检测的阳性率高于单一检测[14,15].

同时, 我们的研究发现胃液和血液中PⅢNP、LN的水平与胃癌的分化程度相关, 即其水平在低分化腺癌高于高分化腺癌. 推测可能由于低分化腺癌一般生长更为迅速, 且更易发生转移, 一旦发生侵袭和转移则会造成PⅢNP和LN水平的进一步升高, 故在低分化腺癌患者体内PⅢNP和LN含量往往更高.

目前, 关于胃液中PⅢNP、LN含量和胃癌的关系未见报道, 为此, 我们联合检测血清和胃

■同行评价
本文研究了胃癌与癌前病变患者的胃液与血液中PⅢNP、LN水平的变化, 探讨他们与临床病理之间的关系, 具有一定的临床意义.

液中PIIINP和LN含量以探讨其与胃癌的关系. 研究表明胃癌患者胃液中的PIIINP、LN水平与血清中PIIINP、LN水平之间呈较强的正线性相关, 由于胃液与肿瘤直接接触, 胃液中PIIINP和LN浓度的变化有可能更加确切地反应病变的情况, 另一方面由于血清中肿瘤标志物的含量的高低取决于生成的量及机体代谢的快慢, 而胃液中这些标志物不需要通过一系列代谢, 故能较直观地反映胃部的病变. 因此联合检测胃液中PIIINP和LN含量可提高对胃癌诊断的敏感性, 可用于胃癌的筛查. 同时, 由于这两项标志物与肿瘤的浸润、分化、转移之间有一定的联系, 故对胃癌的活动有一定的指示意义. 然而, 我们的实验尚存在一些不足, 如样本数偏小, 缺乏胃癌患者临床分期的详细资料等, 这些需要在将来的研究中进一步完善.

4 参考文献

1 Yamada Y, Hozumi K, Nomizu M. Construction and activity of a synthetic basement membrane with active laminin peptides and polysaccharides. *Chemistry* 2011; 17: 10500-10508 [PMID: 22003504]

2 Risteli J, Niemi S, Trivedi P, Mäentausta O, Mowat AP, Risteli L. Rapid equilibrium radioimmunoassay for the amino-terminal propeptide of human type III procollagen. *Clin Chem* 1988; 34: 715-718 [PMID: 3359606]

3 Kulasekara KK, Lukandu OM, Neppelberg E, Vintermyr OK, Johannessen AC, Costea DE. Cancer progression is associated with increased expression of basement membrane proteins in three-dimensional in vitro models of human oral cancer. *Arch Oral Biol* 2009; 54: 924-931 [PMID: 19674736 DOI: 10.1016/j.archoralbio]

4 Skubitz AP, Bast RC, Wayner EA, Letourneau PC, Wilke MS. Expression of alpha 6 and beta 4 integrins in serous ovarian carcinoma correlates with expression of the basement membrane protein laminin. *Am J Pathol* 1996; 148: 1445-1461 [PMID: 8623916]

5 Benton G, Kleinman HK, George J, Arnaoutova I. Multiple uses of basement membrane-like matrix (BME/Matrigel) in vitro and in vivo with cancer cells. *Int J Cancer* 2011; 128: 1751-1757 [PMID: 21344372 DOI: 10.1002/ijc.25781]

6 Saito N, Kameoka S. Serum laminin is an independent prognostic factor in colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis* 2005; 20: 238-244 [PMID: 15592676]

7 Gao ZL, Zhang C, Du GY, Lu ZJ. Clinical significance of changes in tumor markers, extracellular matrix, MMP-9 and VEGF in patients with gastric carcinoma. *Hepatogastroenterology* 2007; 54: 1591-1595 [PMID: 17708308]

8 Qin LX, Tang ZY. Recent progress in predictive biomarkers for metastatic recurrence of human hepatocellular carcinoma: a review of the literature. *J Cancer Res Clin Oncol* 2004; 130: 497-513 [PMID: 15205947]

9 Mori T, Kariya Y, Komiya E, Higashi S, Miyagi Y, Sekiguchi K, Miyazaki K. Downregulation of a newly identified laminin, laminin-3B11, in vascular basement membranes of invasive human breast cancers. *Cancer Sci* 2011; 102: 1095-1100 [PMID: 21276136 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2011.01892.x]

10 Aghcheli K, Parsian H, Qujeq D, Talebi M, Mosapour A, Khalilipour E, Islami F, Semnani S, Malekzadeh R. Serum hyaluronic acid and laminin as potential tumor markers for upper gastrointestinal cancers. *Eur J Intern Med* 2012; 23: 58-64 [PMID: 22153533 DOI: 10.1016/j.ejim.2011.07.018]

11 Kadler KE, Baldock C, Bella J, Boot-Handford RP. Collagens at a glance. *J Cell Sci* 2007; 120: 1955-1998 [PMID: 17550969]

12 Kadler KE, Baldock C, Bella J, Boot-Handford RP. Collagens at a glance. *J Cell Sci* 2007; 120: 1955-1958 [PMID: 17550969 DOI: 10.1186/1756-9966-29-66]

13 Hatahara T, Igarashi S, Funaki N. High concentrations of N-terminal peptide of type III procollagen in the sera of patients with various cancers, with special reference to liver cancer. *Gann* 1984; 75: 130-135 [PMID: 6735030]

14 Akazawa S, Harada A, Futatsuki K. [Diagnostic values of type III Procollagen N-terminal peptide and combination assay of type III procollagen N-terminal peptide with CEA and CA 19-9 in gastric cancer]. *Gan To Kagaku Ryoho* 1984; 11: 1434-1438 [PMID: 6588922]

15 Akazawa S, Fujiki T, Kanda Y, Kumai R, Yoshida S. [Diagnostic values of serum type III procollagen N-terminal peptide in type IV gastric cancer]. *Gan To Kagaku Ryoho* 1985; 12: 861-866 [PMID: 3985646]

编辑 田滢 电编 闫晋利

世界华人消化杂志 2013年5月18日; 21(14): 1321-1326
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

血浆氨基酸比例模型判别慢性乙型肝炎肝组织病理状态的评价

张占卿, 陆 伟, 王雁冰, 贾小芳, 张丽军, 丁荣蓉, 周新兰, 冯艳玲

张占卿, 陆伟, 王雁冰, 丁荣蓉, 周新兰, 上海市公共卫生临床中心肝病二科 上海市 201508
贾小芳, 张丽军, 上海市公共卫生临床中心科研中心 上海市 201508
冯艳玲, 上海市公共卫生临床中心病理科 上海市 201508
上海市科委医学引导类基金资助项目, No. 09411965800
国家“863”高技术研究发展计划生物和医药领域重大/重点基金资助项目, No. 2006AA02A411
作者贡献分布: 张占卿与张丽军对此文所作贡献均等; 此课题由张占卿与张丽军共同设计; 资料收集由张占卿、陆伟、王雁冰、丁荣蓉及周新兰协作完成; 相关实验由贾小芳与冯艳玲完成; 资料整理由陆伟完成; 数据分析由张占卿完成; 本论文写作由张占卿完成.
通讯作者: 张占卿, 主任医师, 201508, 上海市金山区漕廊公路2901号, 上海市公共卫生临床中心肝病二科.
doctorzzqsphc@yahoo.com.cn
收稿日期: 2012-11-29 修回日期: 2013-04-14
接受日期: 2013-04-18 在线出版日期: 2013-05-18

Plasma amino acid ratio models for discrimination of pathological status of liver tissues in patients with chronic hepatitis B

Zhan-Qing Zhang, Wei Lu, Yan-Bing Wang, Xiao-Fang Jia, Li-Jun Zhang, Rong-Rong Ding, Xin-Lan Zhou, Yan-Ling Feng

Zhan-Qing Zhang, Wei Lu, Yan-Bing Wang, Rong-Rong Ding, Xin-Lan Zhou, Department of Hepatology (Division II), Shanghai Public Health Clinical Center Affiliated to Fudan University, Shanghai 201508, China
Xiao-Fang Jia, Li-Jun Zhang, Scientific Research Center, Shanghai Public Health Clinical Center Affiliated to Fudan University, Shanghai 201508, China
Yan-Ling Feng, Department of Pathology, Shanghai Public Health Clinical Center Affiliated to Fudan University, Shanghai 201508, China
Supported by: the Foundation of Shanghai Committee of Science and Technology, No. 09411965800; and the National High-tech R&D Program (863 Program), No. 2006AA02A411
Correspondence to: Zhan-Qing Zhang, Chief Physician, Department of Hepatology (Division II), Shanghai Public Health Clinical Center Affiliated to Fudan University, 2901 Caolanggong Road, Shanghai 201508, China. doctorzzqsphc@yahoo.com.cn
Received: 2012-11-29 Revised: 2013-04-14
Accepted: 2013-04-18 Published online: 2013-05-18

Abstract

AIM: To explore the efficacy of ratio models based on plasma molar concentrations of 6 types of amino acids for discrimination of pathological status of liver tissues in patients with chronic hepatitis B.

METHODS: One hundred and forty-eight patients with pathologically diagnosed chronic hepatitis B were enrolled in the present study. Plasma molar concentrations of amino acids were determined by high performance liquid chromatography. Plasma amino acid ratio models were established by fraction function. Bayes stepwise discriminant analyses were used for assessment of the ratio models of plasma amino acid ratio model for discrimination of pathological status of liver tissues.

RESULTS: The Fisher discriminant functions based on the ratio models of plasma amino acids for discrimination of different pathological grades were: G1 = -7.263 + 10.876 × leucine (pmol/L)/[tyrosine (pmol/L) + methionine (pmol/L)], G2 = -5.700 + 9.396 × leucine (pmol/L)/[tyrosine (pmol/L) + methionine (pmol/L)], and G3 = -4.249 + 7.775 × leucine (pmol/L)/[tyrosine (pmol/L) + methionine (pmol/L)]. The Fisher discriminant functions based on the ratio models of plasma amino acids for discrimination of different pathological stages were: S0 = -11.569 + 0.290 × age (years) + 6.067 × leucine (pmol/L)/tyrosine (pmol/L), S1 = -12.321 + 0.306 × age (years) + 6.172 ×leucine (pmol/L)/tyrosine (pmol/L), S2 = -11.455 + 0.277 × age (years) + 6.273 × leucine (pmol/L)/tyrosine (pmol/L), S3 = -11.335 + 0.305 × age (years) + 5.562 × leucine (pmol/L)/tyrosine (pmol/L), and S4 = -12.811 + 0.371 × age (years) + 4.622 × leucine (pmol/L)/tyrosine (pmol/L). The correctly classified rates of the original grouped cases by the discriminant functions for discrimination of different pathological grades were 47.1% for G1, 30.5% for G2, and 70.9% for G3; the correctly classified rates of the original grouped cases by the discriminant functions for discrimination of different pathological stages were 0.0% for S0, 10.3% for S1, 40.4% for S2, 19.2% for S3, and 62.5% for S4.

■背景资料
肝脏是除支链氨基酸之外的其他氨基酸, 特别是含硫氨基酸和芳香族氨基酸的主要代谢部位. 肝脏储备功能下降导致含硫氨基酸和芳香族氨基酸血浆浓度升高和支链氨基酸/(含硫氨基酸和/或芳香族氨基酸)摩尔比值下降, 对慢性肝炎疾病状态评估有潜在意义.

■同行评议者
管世鹤, 副教授, 安徽医科大学第一附属医院检验科

■研发前沿
代谢组学方法已开始在疾病诊断领域中广泛使用, 疾病状态下的代谢谱可通过数据挖掘技术提取更多的诊断疾病和评估疾病状态的有用信息. 目前很少有文献采用代谢组学方法深入探讨血浆氨基酸模式判别慢性肝炎肝组织病理状态的价值.

CONCLUSION: The partial ratio models based on plasma molar concentrations of 6 types of amino acids are of significance for discrimination of different pathological grades and stages of liver tissues in patients with chronic hepatitis B.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Amino acid; Hepatitis B; Fibrosis; Ratio model; Discriminant analyses; Mathematic model; Noninvasive diagnosis

Zhang ZQ, Lu W, Wang YB, Jia XF, Zhang LJ, Ding RR, Zhou XL, Feng YL. Plasma amino acid ratio models for discrimination of pathological status of liver tissues in patients with chronic hepatitis B. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(14): 1321-1326 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1321.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i14.1321

摘要

目的: 探讨基于6种氨基酸血浆摩尔浓度构建的比例模型判别慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)肝组织病理状态的效能.

方法: 148例经肝组织病理学检查的CHB患者入选本研究. 血浆氨基酸摩尔浓度测定采用Agilent 1100系列高效液相色谱仪. 血浆氨基酸比例模型通过建立分数函数的方式构建. 血浆氨基酸比例模型判别肝组织病理状态的效能的评价采用Bayes逐步判别分析.

结果: 基于血浆氨基酸比例模型构建的判别不同病理学分级的Fisher判别函数为: G1 = -7.263+10.876×亮氨酸/(酪氨酸+蛋氨酸), G2 = -5.700+9.396×亮氨酸/(酪氨酸+蛋氨酸), G3 = -4.249+7.775×亮氨酸/(酪氨酸+蛋氨酸); 判别不同病理学分期的Fisher判别函数为: S0 = -11.569+0.290×年龄+6.067×亮氨酸/酪氨酸, S1 = -12.321+0.306×年龄+6.172×亮氨酸/酪氨酸, S2 = -11.455+0.277×年龄+6.273×亮氨酸/酪氨酸, S3 = -11.335+0.305×年龄+5.562×亮氨酸/酪氨酸, S4 = -12.811+0.371×年龄+4.622×亮氨酸/酪氨酸. 判别不同病理学分级的Fisher判别函数判别G1、G2、G3的一致率分别为47.1%、30.5%、70.9%; 判别不同病理学分期的Fisher判别函数判别S0、S1、S2、S3、S4的一致率分别为0.0%、10.3%、40.4%、19.2%、62.5%.

结论: 基于氨基酸血浆摩尔浓度构建的部分比例模型对判别CHB肝组织不同病理学分级和分期有一定意义.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 氨基酸; 乙型肝炎; 肝纤维化; 比例模型; 判别分析; 数学模型; 无创诊断

核心提示: 本文探讨血浆氨基酸比例模型判别慢性乙型肝炎肝组织病理状态有一定的指导意义.

陆伟, 王雁冰, 贾小芳, 张丽军, 丁荣蓉, 周新兰, 冯艳玲. 血浆氨基酸比例模型判别慢性乙型肝炎肝组织病理状态的评价. 世界华人消化杂志 2013; 21(14): 1321-1326 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1321.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i14.1321

0 引言

血浆中由各种氨基酸及其浓度组成的氨基酸谱, 即氨基酸模式, 蕴涵着重要的反映机体代谢和功能状态的生物化学信息, 对慢性肝病疾病状态的评估有一定意义, 但很少有文献深入探讨血浆氨基酸模式判别不同病因慢性肝炎肝组织病理状态的价值. 生物化学背景下的研究指出, 一些基于氨基酸血浆摩尔浓度构建的比例模型如(异亮氨酸+亮氨酸+缬氨酸)/(酪氨酸+苯丙氨酸)、(异亮氨酸+亮氨酸+缬氨酸)/酪氨酸和(异亮氨酸+亮氨酸+缬氨酸)/(酪氨酸+苯丙氨酸+蛋氨酸)摩尔比值对失代偿性肝硬化有一定的诊断价值[1]. 本文就148例慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)患者6种血浆氨基酸(异亮氨酸、亮氨酸、缬氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、蛋氨酸)的测定结果, 参照肝组织病理学诊断, 采用Bayes判别分析探讨基于氨基酸血浆摩尔浓度的比例模型判别CHB疾病状态的效能.

1 材料与方法

1.1 材料 收集2009-01/2011-06上海市公共卫生临床中心(复旦大学附属)住院的CHB患者148例, 男108例, 女40例, 男∶女= 2.7∶1.0; 年龄16-72岁, 平均(38.1±11.9)岁. 诊断符合2010年中华医学会肝病学分会、感染病学分会联合修订的《慢性乙型肝炎防治指南》中的标准. 合并其他病毒性肝炎、自身免疫性肝病、药物性肝病、遗传性肝病、血吸虫性肝病以及妊娠、肾脏疾病、内分泌与代谢疾病、血液系统疾病的患者被排除. 所有患者均无失代偿性肝病的临床表现和实验室依据, 并且近3 mo内无输血或血制品史.

1.2 方法

1.2.1 病理学诊断: 肝组织活检采用1 s经皮肝穿刺法, 标本采集后立即置塑料标本管内冰冻送检. 肝组织置塑料包埋盒中, 进行中性甲醛固定、梯度乙醇脱水、二甲苯透明、石蜡浸入和

表 1 氨基酸血浆比例模型与肝组织病理学分级和分期之间的Spearman相关系数

比例模型	分级		比例模型	分期	
	*r*值	*P*值		*r*值	*P*值
Leu/Tyr	−0.368	0.000	Leu/Tyr	−0.349	0.000
(Leu+Val)/Tyr	−0.368	0.000	(Ile+Leu)/Tyr	−0.350	0.000
(Ile+Leu+Val)/Tyr	−0.368	0.000	(Ile+Leu+Val)/Tyr	−0.345	0.000
Leu/(Tyr+Met)	−0.366	0.000	(Leu+Val)/Tyr	−0.342	0.000
(Ile+Leu)/(Tyr+Met)	−0.359	0.000	(Ile+Val)/Tyr	−0.336	0.000
(Ile+Val)/Tyr	−0.357	0.000	Val/Tyr	−0.311	0.000

Ile: 异亮氨酸; Leu: 亮氨酸; Val: 缬氨酸; Tyr: 酪氨酸; Met: 蛋氨酸.

■相关报道
张占卿等的综述指出, 受数据分析技术的限制, 血浆氨基酸模式蕴涵的反映机体代谢和功能状态的生化信息尚未被充分开发, 包括Fischer摩尔比值或支链氨基酸/酪氨酸摩尔比值在内的血浆氨基酸比例模型预测慢性肝炎疾病状态的有效性和可靠性还需被进一步评价.

包埋、切片, 苏木素-伊红染色和网状纤维染色. 肝组织标本的质量评价和肝组织病理学诊断由1名有经验的病理学医师独立完成. 肝组织病理学诊断参照2000年西安全国病毒性肝炎及肝病学术会议修订的标准. 病理学分级(grading, G)包括G0、G1、G2、G3、G4共5级, 分期(staging, S)包括S0、S1、S2、S3、S4共5期.

1.2.2 氨基酸血浆浓度测定: 所有患者于肝穿刺前后1周内早晨空腹采集静脉血, EDTA抗凝, 分离血浆. 氨基酸血浆浓度测定采用Agilent 1100系列高效液相色谱仪. 氨基酸标准品及衍生试剂购自Agilent公司. 使用Agilent Zorbax Eclipse AAA色谱柱(4.6×150 mm, 5 μm)和保护柱; 流动相A: 40 mmol/L Na_2HPO_4(pH 7.8), 流动相B: 10%H_2O+45%CAN+45%MeOH; 流速2 mL/min, 线性梯度: 0-18 min: 0%-57%B; 使用DAD UV检测器, 信号A = 338/10 nm, 参考 = 390/20 nm; 柱温40 ℃. 采用在线衍生技术, 由液相色谱自动进样器全自动完成衍生化过程.

1.2.3 氨基酸比例模型构建: 肝脏是除支链氨基酸(亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸)之外的其他氨基酸, 特别是含硫氨基酸(蛋氨酸、胱氨酸、半胱氨酸)和芳香族氨基酸(色氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸)的主要代谢部位, 因此, 含硫氨基酸和芳香族氨基酸的血浆摩尔浓度依赖于肝脏对他们的处理能力. 肝脏处理支链氨基酸的能力严格受限. 外周组织特别是骨骼肌是支链氨基酸的主要代谢部位, 因此, 支链氨基酸的血浆摩尔浓度主要被外周组织代谢所控制. 根据氨基酸的主要代谢部位, 6种氨基酸被分成两组, A组为以外周组织为主要代谢部位的氨基酸, 包括N_A个组分A_α($1\leqslant\alpha\leqslant N_A$); B组为以肝脏组织为主要代谢部位的氨基酸, 包括N_B个组分B_β($1\leqslant\beta\leqslant N_B$). 建立分数函数$F=\sum(\sum A_\alpha/\sum B_\beta)$, 即基于氨基酸血浆摩尔浓度构建的诊断肝组织病理状态的比例模型; 式中$\sum A_\alpha$是部分A_α的总和, $\sum B_\beta$是部分B_β的总和. 根据组合原理, n个组分的部分组合的数量 = $2n$-1, 因此, 分数函数$F=\sum(\sum A_\alpha/\sum B_\beta)$的数量 = $(2^{NA}-1)\times(2^{NB}-1)$.

统计学处理 应用SPSS13.0软件处理数据. 基于氨基酸血浆摩尔浓度构建的比例模型与肝组织病理学分级和分期之间的相关性采用Spearman等级相关分析. 由于根据部分变量组合构建的比例模型数量较大, 而且不是所有模型对肝组织病理状态有判别意义, 因此, 本文只选择与病理学分级和分期有显著相关性的相关系数由大到小排列的前6个比例模型进行分析. 比例模型在不同病理学分级和分期之间的差异比较采用单因素方差分析; 根据方差齐性与否, 比例模型在肝组织不同病理学分级和分期之间的两两比较分别采用LSD法和Tamhane T2法. 比例模型判别不同病理学分级和分期的效能评价采用Bayes逐步判别分析, 分析方法采用Wilks' lambda法, 模型纳入变量的F>3.84, 剔除变量的F<2.71; 基于逐步判别分析构建的Fisher判别函数预测不同病理学分级和分期的一致性分析采用留一交叉验证法.

2 结果

2.1 氨基酸血浆比例模型与肝组织病理学分级和分期之间的相关性 根据部分变量组合原理, 6种氨基酸共构建49个比例模型. 49个比例模型中, 42个比例模型与病理学分级呈显著负相关(P<0.05), 28个比例模型与病理学分期呈显著负相关(P<0.05); 其中与病理学分级和分期有显著相关性的相关系数由大到小排列的前6个模型的Spearman相关系数见表1.

2.2 氨基酸血浆比例模型在肝组织不同病理学分级和分期之间的差异 亮氨酸/酪氨酸在G1与G2、G2与G3、G1与G3之间的差异均有统计学

■创新盘点

根据氨基酸的主要代谢部位, 采用分式函数的方法构建了比血浆氨基酸浓度更加稳定的氨基酸比例模型; 采用Bayes逐步判别分析, 筛选了对慢性肝炎肝组织病理状态有判别意义的比例模型, 构建了对慢性肝炎肝组织病理状态有判别意义的Fisher判别函数.

表 2 氨基酸血浆比例模型在肝组织不同病理学分级之间的差异

分级	*n*	Leu/Tyr	(Leu+Val)/Tyr	(Ile+Leu+Val)/Tyr	Leu/(Tyr+Met)	(Ile+Leu)/(Tyr+Met)	(Ile+Val)/Tyr
G1	34	1.78 ± 0.69	4.86 ± 1.85	5.87 ± 2.25	1.13 ± 0.39	1.77 ± 0.60	4.09 ± 1.57
G2	59	1.54 ± 0.44	4.16 ± 1.30	5.04 ± 1.47	0.98 ± 0.31	1.53 ± 0.47	3.51 ± 1.05
G3	55	1.27 ± 0.44	3.47 ± 1.24	4.23 ± 1.45	0.81 ± 0.29	1.28 ± 0.45	2.95 ± 1.02
*F*值	10.860	10.319	10.441	10.880	10.738	10.011	
*P*值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	

Ile: 异亮氨酸; Leu: 亮氨酸; Val: 缬氨酸; Tyr: 酪氨酸; Met: 蛋氨酸.

表 3 氨基酸血浆比例模型在肝组织不同病理学分期之间的差异

分期	*n*	Leu/Tyr	(Ile+Leu)/Tyr	(Ile+Leu+Val)/Tyr	(Leu+Val)/Tyr	(Ile+Val)/Tyr	Val/Tyr
S0	6	1.60 ± 0.51	2.56 ± 0.87	5.34 ± 1.65	4.39 ± 1.29	3.74 ± 1.15	2.79 ± 0.78
S1	29	1.63 ± 0.44	2.55 ± 0.66	5.42 ± 1.56	4.49 ± 1.40	3.79 ± 1.14	2.86 ± 0.99
S2	47	1.66 ± 0.66	2.60 ± 1.04	5.42 ± 2.05	4.48 ± 1.69	3.76 ± 1.41	2.82 ± 1.05
S3	26	1.47 ± 0.45	2.29 ± 0.66	4.72 ± 1.45	3.90 ± 1.26	3.26 ± 1.01	2.43 ± 0.83
S4	40	1.21 ± 0.41	1.91 ± 0.64	4.08 ± 1.49	3.32 ± 1.29	2.87 ± 1.09	2.17 ± 0.87
*F*值	4.769	4.712	4.248	4.426	3.967	3.528	
*P*值	0.001	0.001	0.003	0.002	0.004	0.009	

Ile: 异亮氨酸; Leu: 亮氨酸; Val: 缬氨酸; Tyr: 酪氨酸.

意义(P = 0.027、0.006、0.000), (亮氨酸+缬氨酸)/酪氨酸在G1与G2、G2与G3、G1与G3之间的差异均有统计学意义(P = 0.023, 0.011, 0.000), (异亮氨酸+亮氨酸+缬氨酸)/酪氨酸在G1与G2、G2与G3、G1与G3之间的差异均有统计学意义(P = 0.023, 0.010, 0.000), 亮氨酸/(酪氨酸+蛋氨酸)在G1与G2、G2与G3、G1与G3之间的差异均有统计学意义(P = 0.028、0.006、0.000), (异亮氨酸+亮氨酸)/(酪氨酸+蛋氨酸)在G1与G2、G2与G3、G1与G3之间的差异均有统计学意义(P = 0.029、0.006、0.000), (异亮氨酸+缬氨酸)/酪氨酸在G1与G2、G2与G3、G1与G3之间的差异均有统计学意义(P = 0.022、0.013、0.000)(表2).

(异亮氨酸+亮氨酸)/酪氨酸在S0与S1、S1与S2、S2与S3、S3与S4之间的差异均无统计学意义(P = 0.998、0.823、0.119、0.063), 但在S1与S4、S2与S4之间的差异有统计学意义(P = 0.001、0.000); 亮氨酸/酪氨酸在S0与S1、S1与S2、S2与S3、S3与S4之间的差异均无统计学意义(P = 0.908、0.814、0.131、0.051), 但在S1与S4、S2与S4之间的差异有统计学意义(P = 0.001、0.000); (异亮氨酸+亮氨酸+缬氨酸)/酪氨酸在S0与S1、S1与S2、S2与S3、S3与S4之间的差异均无统计学意义(P = 0.922、0.999、0.097、0.136), 但在S1与S4、S2与S4之间的差异有统计学意义(P = 0.002、0.000); (亮氨酸+缬氨酸)/酪氨酸在S0与S1、S1与S2、S2与S3、S3与S4之间的差异均无统计学意义(P = 0.875、0.970、0.102、0.114), 但在S1与S4、S2与S4之间的差异有统计学意义(P = 0.001、0.000); (异亮氨酸+缬氨酸)/酪氨酸在S0与S1、S1与S2、S2与S3、S3与S4之间的差异均无统计学意义(P = 0.929、0.918、0.089、0.200), 但在S1与S4、S2与S4之间的差异有统计学意义(P = 0.002、0.001); 缬氨酸/酪氨酸在S0与S1、S1与S2、S2与S3、S3与S4之间的差异均无统计学意义(P = 0.866、0.854、0.095、0.272), 但在S1与S4、S2与S4之间的差异有统计学意义(P = 0.003、0.002)(表3).

2.3 氨基酸血浆比例模型判别肝组织不同病理学分级和分期的判别函数 以病理学分级作为因变量, 年龄和与病理学分级有显著相关性的相关系数由大到小排列的前6个模型作为自变量, 应用Bayes逐步判别分析, 构建Fisher判别函数; 结果, 符合模型纳入变量、进入判别函数的指标只有亮氨酸/(酪氨酸+蛋氨酸). 基于氨基酸血浆比例模型构建的判别不同病理学分级的Fisher判别函数为: G1 = -7.263+10.876×亮氨酸/(酪氨酸+蛋氨酸), G2 = -5.700+9.396×亮氨

表 4 基于氨基酸血浆比例模型的Fisher判别函数的预测病理学分级与实际病理学分级的一致性

实际分级	预测分级					
	G1		G2		G3	
	n	一致率(%)	*n*	一致率(%)	*n*	一致率(%)
G1	16	47.1	8	23.5	10	29.4
G2	17	28.8	18	30.5	24	40.7
G3	12	21.8	4	7.3	39	70.9

表 5 基于氨基酸血浆比例模型的Fisher判别函数的预测病理学分期与实际病理学分期的一致性

实际分期	预测分期									
	S0		S1		S2		S3		S4	
	n	一致率(%)	*n*	一致率(%)	*n*	一致率(%)	*n*	一致率(%)	*n*	一致率(%)
S0	0	0.0	1	16.7	2	33.3	2	33.3	1	16.7
S1	1	3.4	3	10.3	11	37.9	7	24.1	7	24.1
S2	2	4.3	7	14.9	19	40.4	11	23.4	8	17.0
S3	1	3.8	4	15.4	8	30.8	5	19.2	8	30.8
S4	0	0.0	3	7.5	4	10.0	8	20.0	25	62.5

■应用要点

血浆支链氨基酸、含硫氨基酸和芳香族氨基酸浓度存在日间波动, 但基于氨基酸血浆摩尔浓度构建的比例模型相对稳定. 基于血浆氨基酸比例模型构建的Fisher判别函数对判别肝组织病理状态有一定意义.

酸/(酪氨酸+蛋氨酸), G3 = -4.249+7.775×亮氨酸/(酪氨酸+蛋氨酸). 以病理学分期作为因变量, 年龄和与病理学分期有显著相关性的相关系数由大到小排列的前6个模型作为自变量, 应用Bayes逐步判别分析, 构建Fisher判别函数; 结果, 符合模型纳入变量、进入判别函数的指标只有年龄和亮氨酸/酪氨酸. 基于氨基酸血浆比例模型构建的判别不同病理学分期的Fisher判别函数为: S0 = -11.569+0.290×年龄+6.067×亮氨酸/酪氨酸, S1 = -12.321+0.306×年龄+ 6.172×亮氨酸/酪氨酸, S2 = -11.455+0.277×年龄+6.273×亮氨酸/酪氨酸, S3 = -11.335+0.305×年龄+5.562×亮氨酸/酪氨酸, S4 = -12.811+0.371×年龄+4.622×亮氨酸/酪氨酸.

2.4 基于氨基酸血浆比例模型构建的判别函数判别肝组织不同病理学分级和分期的一致性

采用留一交叉验证法将亮氨酸/(酪氨酸+蛋氨酸)回代入判别函数, 结果显示, 判别函数判别G1、G2、G3的一致率分别为47.1%、30.5%、70.9%; 其中判别G1、G3的一致率高于期望一致率42.0%(表4). 采用留一交叉验证法将年龄和亮氨酸/酪氨酸回代入判别函数, 结果显示, 判别函数判别S0、S1、S2、S3、S4的一致率分别为0.0%、10.3%、40.4%、19.2%、62.5%; 其中判别S2、S4的一致率高于期望一致率29.4%(表5).

3 讨论

Fischer等[2]首先将支链氨基酸/芳香族氨基酸摩尔比值应用于肝性脑病的诊断; 与此同时, Morgan等[3]也注意到代偿性肝病患者也存在血浆氨基酸模式的变化. Morgan等[3]的研究指出, 虽然3种支链氨基酸与两种芳香族氨基酸浓度存在日间波动, 但支链氨基酸/芳香族氨基酸摩尔比值相对稳定; 不管是否存在肝性脑病, 慢性肝病患者的支链氨基酸/芳香族氨基酸摩尔比值均有不同程度下降, 并且与以组织学标准判定的肝脏损伤的严重程度显著相关. 但是, 血浆氨基酸模式是否可用于慢性肝炎疾病状态的诊断, 至今仍不能被确定. 基于某种病因慢性肝病筛选和构建的诊断肝纤维化程度的无创指标和模型不一定适合于他种病因的慢性肝病. 基于慢性丙型肝炎筛选和构建的诊断肝纤维化程度的无创指标和模型不一定适合于CHB[4-6]. Morgan等[7]曾对不同病因慢性肝病患者的血浆氨基酸模式进行了分析, 发现慢性活动型肝炎、原发性胆汁性肝硬化、酒精性肝炎或肝硬化、酒精性脂肪肝、病毒性肝炎、隐源性肝炎的血浆氨基酸模式的变化不完全一致. 本文的主要目的是, 探讨基于氨基酸血浆摩尔浓度的比例模型判别CHB肝组织病理状态的效能.

氨基酸血浆浓度及其比例模型用于诊断慢性肝炎肝组织病理状态的研究文献较少. Kano等[8]调查了6种氨基酸(异亮氨酸、亮氨酸、缬氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、蛋氨酸)血浆浓度诊断慢性肝炎肝组织不同病理状态的价值. 结果

■同行评价
本文实验数据充足, 结果科学, 结论明确, 统计学分析恰当, 具有一定指导意义.

显示, 健康对照、慢性迁延型肝炎、轻度慢性活动型肝炎、重度慢性活动型肝炎、代偿性肝硬化和失代偿性肝硬化患者的支链氨基酸/芳香族氨基酸摩尔比值依次递减, 并且彼此之间的差异均有统计学意义; 基于该6种氨基酸浓度、支链氨基酸/芳香族氨基酸摩尔比值和常规生化指标水平的判别分析指出, 支链氨基酸/芳香族氨基酸摩尔比值是诊断慢性迁延型肝炎、轻度慢性活动型肝炎、重度慢性活动型肝炎最可靠的指标. 最近, Michitaka等[9]测定了101例慢性肝炎(乙型肝炎8例, 丙型肝炎89例, 原因不明肝炎4例)患者支链氨基酸、酪氨酸血浆浓度, 结果指出, 支链氨基酸和酪氨酸浓度低于正常参考值下限和高于正常参考值上限的比例, 在F1、F2、F3、F4分别为18.9%、4.3%、9.5%、20.0%和16.2%、21.7%、42.9%、57.1%; 而支链氨基酸/酪氨酸摩尔比值低于正常参考值下限的比例, 在F1、F2、F3、F4分别为16.2%、43.4%、47.6%、75.0%. 提示与随慢性肝炎肝组织炎症程度和纤维化程度增加而出现定向变化的氨基酸血浆浓度相比, 支链氨基酸/芳香族氨基酸或支链氨基酸/酪氨酸摩尔比值可能有更大的判别效能.

为提升血浆氨基酸判别CHB肝组织病理状态的效能, 本文将分别以外周组织和肝脏组织为主要代谢部位的6种氨基酸被分成两组, 通过建立分数函数, 构建了基于氨基酸血浆摩尔浓度的比例模型. 根据相关分析, 选择与病理学分级和分期有显著相关性的相关系数由大到小排列的前6个模型, 对其判别肝组织病理状态的价值进行了分析和评价. 根据方差分析, 亮氨酸/酪氨酸、(亮氨酸+缬氨酸)/酪氨酸、(异亮氨酸+亮氨酸+缬氨酸)/酪氨酸、亮氨酸/(酪氨酸+蛋氨酸)、(异亮氨酸+亮氨酸)/(酪氨酸+蛋氨酸)、(异亮氨酸+缬氨酸)/酪氨酸在不同病理学分级之间的差异具有统计学意义; 根据Bayes逐步判别分析, 基于氨基酸血浆比例模型构建的Fisher判别函数判别G1、G2、G3的一致率分别为47.1%、30.5%、70.9%; 其中判别G1、G3的一致率高于期望一致率42.0%. 根据方差分析, (异亮氨酸+亮氨酸)/酪氨酸、亮氨酸/酪氨酸、(异亮氨酸+亮氨酸+缬氨酸)/酪氨酸、(亮氨酸+缬氨酸)/酪氨酸、(异亮氨酸+缬氨酸)/酪氨酸、缬氨酸/酪氨酸在不同病理学分级之间的差异具有统计学意义; 根据Bayes逐步判别分析, 基于氨基酸血浆比例模型构建的Fisher判别函数判别S0、S1、S2、S3、S4的一致率分别为0.0%、10.3%、40.4%、19.2%、62.5%; 其中判别S2、S4的一致率高于期望一致率29.4%. 提示基于氨基酸血浆摩尔浓度构建的部分比例模型对判别肝组织病理学分级和分期均有一定意义.

总之, 氨基酸血浆比例模型对CHB肝组织病理状态有潜在的判别意义, 但是, 基于氨基酸血浆比例模型构建的Fisher判别函数还不能有效地判别部分病理学分级和分期. 氨基酸血浆比例模型判别CHB肝组织病理状态的实践价值还需要在扩大样本中进一步验证.

4 参考文献

1 张占卿, 张丽军. 血浆氨基酸模式诊断慢性肝炎疾病状态的研究现状. 临床荟萃 2009; 249: 816-818
2 Fischer JE, Funovics JM, Aguirre A, James JH, Keane JM, Wesdorp RI, Yoshimura N, Westman T. The role of plasma amino acids in hepatic encephalopathy. *Surgery* 1975; 78: 276-290 [PMID: 807982]
3 Morgan MY, Milsom JP, Sherlock S. Plasma ratio of valine, leucine and isoleucine to phenylalanine and tyrosine in liver disease. *Gut* 1978; 19: 1068-1073 [PMID: 730076 DOI: 10.1136/gut.19.11.1068]
4 Wai CT, Cheng CL, Wee A, Dan YY, Chan E, Chua W, Mak B, Oo AM, Lim SG. Non-invasive models for predicting histology in patients with chronic hepatitis B. *Liver Int* 2006; 26: 666-672 [PMID: 16842322 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2006.01287.x]
5 Shin WG, Park SH, Jang MK, Hahn TH, Kim JB, Lee MS, Kim DJ, Jun SY, Park CK. Aspartate aminotransferase to platelet ratio index (APRI) can predict liver fibrosis in chronic hepatitis B. *Dig Liver Dis* 2008; 40: 267-274 [PMID: 18055281 DOI: 10.1016/j.dld.2007.10.011]
6 张占卿, 曹婕, 陆伟, 史连国. ROC曲线法评价简易无创模型预测乙型肝炎相关肝硬化. 胃肠病学和肝病学杂志 2009; 18: 41-44
7 Morgan MY, Marshall AW, Milsom JP, Sherlock S. Plasma amino-acid patterns in liver disease. *Gut* 1982; 23: 362-370 [PMID: 7076013 DOI: 10.1136/gut.23.5.362]
8 Kano T, Nagaki M, Takahashi T, Ohnishi H, Saitoh K, Kimura K, Muto Y. Plasma free amino acid pattern in chronic hepatitis as a sensitive and prognostic index. *Gastroenterol Jpn* 1991; 26: 344-349 [PMID: 1889691]
9 Michitaka K, Hiraoka A, Kume M, Uehara T, Hidaka S, Ninomiya T, Hasebe A, Miyamoto Y, Ichiryu M, Tanihira T, Nakahara H, Ochi H, Tanabe A, Uesugi K, Tokumoto Y, Mashiba T, Abe M, Hiasa Y, Matsuura B, Onji M. Amino acid imbalance in patients with chronic liver diseases. *Hepatol Res* 2010; 40: 393-398 [PMID: 20236360 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2009.00614.x]

编辑 田滢 电编 闫晋利

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2013年5月18日; 21(14): 1327-1332
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

肝脏未分化胚胎性肉瘤4例

贾昌俊, 赵 薇, 戴朝六

贾昌俊, 戴朝六, 中国医科大学附属盛京医院肝胆脾外科 辽宁省沈阳市 110004
赵薇, 中国医科大学附属盛京医院病理科 辽宁省沈阳市 110004
贾昌俊, 主治医师, 主要从事肝胆脾外科的基础与临床研究.
作者贡献分布: 此课题由贾昌俊与戴朝六设计; 研究过程由贾昌俊与赵薇操作完成; 病理与免疫组织化学检查由赵薇完成; 论文写作由贾昌俊完成.
通讯作者: 戴朝六, 教授, 110004, 辽宁省沈阳市和平区三好街36号, 中国医科大学附属盛京医院普通外科肝胆脾外科病房. daicl@sj-hospital.org
电话: 024-96615-31511
收稿日期: 2013-03-06 修回日期: 2013-04-03
接受日期: 2013-04-12 在线出版日期: 2013-05-18

Diagnosis and treatment of undifferentiated embryonal sarcoma of the liver: A retrospective study of four cases

Chang-Jun Jia, Wei Zhao, Chao-Liu Dai

Chang-Jun Jia, Chao-Liu Dai, Department of General Surgery, Shengjing Hospital, China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China
Wei Zhao, Department of Pathology, Shengjing Hospital, China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China
Correspondence to: Chao-Liu Dai, Professor, Department of General Surgery, Shengjing Hospital, China Medical University, 36 Sanhao Street, Heping District, Shenyang 110004, Liaoning Province, China. daicl@sj-hospital.org
Received: 2013-03-06 Revised: 2013-04-03
Accepted: 2013-04-12 Published online: 2013-05-18

Abstract

AIM: To explore the diagnosis and treatment of undifferentiated embryonal sarcoma of the liver (UESL).

METHODS: Clinical data for four patients with pathologically confirmed UESL who were treated at our hospital between 2005 and 2011 were retrospectively analyzed.

RESULTS: Three children (2 female and 1 male) and one female adult were included. Their age was 14, 14, 6 and 46 years old, respectively. Clinical presentation was typically an abdominal mass that may be accompanied by pain and/or fever. Diagnosis relies on histopathological examination and it is difficult for radiological examination to establish a definite diagnosis. Tumors were removed surgically in all four patients, and two patients received adjuvant chemotherapy.

CONCLUSION: UESL is an unusua1 malignancy of the 1iver. Whenever feasible, radica1 resection should be attempted as a part of combination modalities. Multiagent adjuvant chemotherapy and supportive therapy might improve surviva1.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Undifferentiated embryonal sarcoma; Liver; Diagnosis; Treatment

Jia CJ, Zhao W, Dai CL. Diagnosis and treatment of undifferentiated embryonal sarcoma of the liver: A retrospective study of four cases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(14): 1327-1332 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1327.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i14.1327

摘要

目的: 探讨肝脏未分化胚胎性肉瘤(undifferentiated embryonal sarcoma of the liver, UESL)的诊断与治疗.

方法: 回顾性总结分析本院2005-2011年住院手术治疗并经术后病理组织学检查确认的4例UESL患者的临床资料.

结果: 男1例, 女3例, 年龄分别为6岁、14岁、14岁和46岁. 既往无肝病背景, 其临床表现主要为腹部包块、腹痛和发热等. 术前常规化验检查显示肝功能基本正常, 肝炎病毒标志物和甲胎蛋白等肿瘤标志物均为阴性. 术前影像学检查确诊较困难, 术后病理组织学检查均确诊为UESL. 所有患者均行根治性手术切除, 其中2例因出现发热和腹膜炎体征而疑有肿瘤破裂出血, 转行急诊手术治疗, 并于术后联合行化学药物辅助治疗.

结论: UESL是一种少见的高度恶性肿瘤, 无特异性临床表现, 术前难以确诊; 治疗上仍以

■背景资料
肝脏未分化胚胎性肉瘤(undifferentiated embryonal sarcoma of the liver, UESL)是一种少见的肝脏原发性恶性肿瘤, 常见于儿童, 成人极罕见. 临床表现多无特异性, 多以触及腹部包块就诊, 可伴有或不伴有腹痛. 患者既往无肝病背景, 术前常规化验和影像学检查确诊困难, 均需行病理组织学检查确诊.

■同行评议者
卢宁, 副主任医师, 兰州军区乌鲁木齐总医院肿瘤科

■相关报道
May等报道5例儿童UESL患者采用手术切除联合VAC方案化疗及必要的放疗, 术后的平均无瘤生存时间可达53 mo; Li等认为手术联合术后肝动脉化疗栓塞(transcatheter hepatic arterial chemoembolization, TACE)的治疗效果要优于单纯的手术治疗.

手术完整切除肿瘤为首选, 联合化疗等综合辅助治疗可进一步提高疗效.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 未分化胚胎性肉瘤; 肝脏; 诊断; 治疗

核心提示: 肝脏未分化胚胎性肉瘤(undifferentiated embryonal sarcoma of the liver, UESL)在临床上较为罕见, 术前确诊困难, 易被忽视或误诊, 其恶性程度高, 长期生存率较低. 由于UESL临床报道的病例数仍然较少, 对于诊断和治疗的标准及效果尚需进一步的观察和总结.

贾昌俊, 赵薇, 戴朝六. 肝脏未分化胚胎性肉瘤4例. 世界华人消化杂志 2013; 21(14): 1327-1332 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1327.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i14.1327

0 引言

肝脏未分化胚胎性肉瘤(undifferentiated embryonal sarcoma of the liver, UESL)是一种恶性的肝脏肿瘤, 由未分化的恶性间质细胞构成. UESL在临床上少见, 主要见于儿童, 成人发病罕见, 约75%的患者为6-15岁的儿童, 是除肝母细胞瘤和肝细胞癌之外儿童最常见的肝脏恶性肿瘤[1]. UESL的临床表现和辅助检查结果缺乏特异性, 术前确诊较困难, 预后也较差, 多在发病后1年内死亡. 本文回顾性分析中国医科大学附属盛京医院2005-2011年成人及小儿普通外科收治的4例UESL患者的临床资料, 报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 4例患者, 男1例, 女3例; 3例为15岁以下儿童, 年龄分别为6岁、14岁、14岁, 1例为46岁成年女性患者. 临床表现主要为上腹部疼痛、发热、腹围增大和腹部肿块等. 既往4例患者均无慢性肝炎、肝硬化等肝病背景, 但成年女性患者有系统性红斑狼疮和口服激素类药物治疗病史.

1.2 方法 所有患者术前分别行实验室检查、影像学检查(B超、CT), 术后行病理组织学和免疫组织化学检查. 最后收集整理所有患者的临床病例资料并进行随访(表1).

2 结果

2.1 实验室检查 2例血常规显示白细胞升高和重度贫血; 肝功能均基本正常, 2例有轻度的低白蛋白血症, 1例谷草转氨酶轻度升高; 肝炎标志物均为阴性; 甲胎蛋白(α-fetoprotein, AFP)、癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)及糖抗原19-9(carbohydrate antigen 19-9, CA19-9)等肿瘤标志物均阴性.

2.2 影像学检查 (1)B超检查: 4例均行腹部彩超检查, 3例儿童UESL患者均显示囊实混合性肿物, 1例成人UESL显示为不均质中低回声肿物. (2)CT检查: 除1例儿童UESL患者因急诊手术而仅行超声检查, 其余3例均行CT检查. 2例儿童UESL患者的CT平扫显示囊实性低密度肿物, 可见液性区、分隔影及结节状软组织密度影; 增强扫描动脉期实性部分轻度强化或明显强化, 而静脉期强化增强. 成人UESL患者的CT平扫显示为不规则稍低密度肿物, 增强扫描动脉期强化明显低于周围肝实质, 随后强化程度逐渐增加, 至延迟期强化仍低于周围肝实质(图1, 2).

2.3 术前诊断 4例患者术前均未能正确临床诊断, 其中1例儿童患者诊为肝囊腺癌, 2例儿童患者诊为肝恶性肿瘤合并破裂出血, 1例成人病例诊为原发性肝癌.

2.4 手术治疗 所有病例均行手术完整切除肿瘤, 2例因出现发热和腹膜炎体征而疑有肿瘤破裂出血, 转行急诊手术. 术中均未见肝硬化表现, 病灶主要位于肝右叶, 无腹腔内肿瘤转移迹象. 2例术前怀疑肿瘤破溃出血者均得到证实, 其中1例侵犯右侧膈肌. 根据肿瘤位置和分布范围, 1例行肝右三叶切除, 3例行联合肝段切除(S6、7、8段联合切除1例, S5、6段联合切除1例, S5、4b段联合切除1例). 围手术期无并发症发生.

2.5 辅助治疗 所有病例术前均未行经皮肝动脉化疗栓塞(transcatheter hepatic arterial chemoembolization, TACE)、化疗等抗肿瘤治疗. 2例合并肿瘤破裂出血的患者术后行静脉化疗(VAC方案: 长春新碱+放线菌素D+环磷酰胺).

2.6 病理学检查 所有切除标本均行病理组织学和免疫组织化学染色检查确认为UESL. 肉眼见肿物为囊实混合性或实性, 囊性部分内为胶冻样或血水样成分, 实性部分质软, 切面呈暗红或粉白色. 肿物长径约6-22 cm. 镜下见瘤组织由未分化间叶细胞和黏液样间质组成, 瘤细胞呈梭形或多角形, 排列稀疏或致密, 或呈束状排列, 可见瘤巨细胞, 瘤细胞间见嗜酸性玻璃样小体, 可见出血及坏死(表1, 图3).

2.7 随访 术后随访至今, 1例儿童UESL患者失访, 2例合并肿瘤破裂出血行术后辅助化疗的儿童UESL患者中, 1例术后6 mo复查CT无肿瘤复

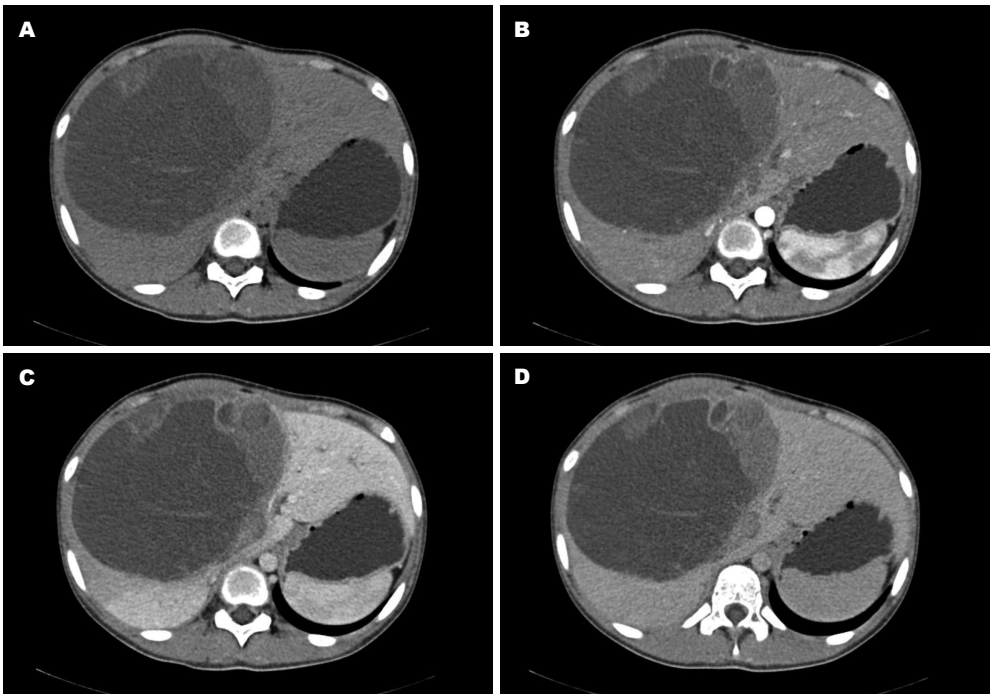


图 1 例1肝脏增强CT图像. A: 平扫显示肝右叶为主的巨大椭圆形囊实混合性肿物, 边界清晰, 内见多房分隔影, 部分分房内可见液平面, 实性部分呈多个结节状软组织密度影; B: 动脉期病灶内软组织密度影轻度均匀强化; C: 门静脉期病灶强化程度略高于动脉期; D: 延迟期病灶强化程度仍略高于动脉期.

■创新盘点

本文报道了3例儿童UESL和1例成人UESL病例, 总结了相关的临床诊治特点, 并对相关文献进行了复习和总结, 对临床有一定的参考价值.

发, 后失访; 1例仍健在, 无肿瘤复发迹象, 术后无瘤生存时间为36 mo. 成人UESL患者于术后6 mo出现肝内复发, 术后12 mo死亡.

3 讨论

UESL是发生于肝脏原始间叶组织的高度恶性肿瘤, 占所有儿童肝脏恶性肿瘤的9%-13%[2]. 国内上海东方肝胆外科医院统计该院1982-2009年间外科手术切除的原发性肝脏占位病变中, UESL仅占0.1%[3]. UESL的病因和发病机制尚不明确, 一般均没有肝病背景, 成人病例中也有合并多发性硬化症、恶性肿瘤化疗等病史者[4,5]. 本组中的女性成人病例既往有系统性红斑狼疮病史, 并长期服用激素类药物治疗, 这是否与UESL发病有关尚不清楚; 其他3例儿童UESL病例均未发现既往有特殊病史.

UESL的临床表现与肿瘤大小及生长速度有关, 但并无特异性. 儿童患者典型的临床表现主要为腹痛、腹围增大、体质量下降和发热等, 腹痛和发热可能为瘤内出血坏死所致. 查体时可触及上腹部肿块, 并伴有不同程度的压痛. 晚期瘤体生长较快, 常较巨大, 多合并瘤内出血, 或自发破溃而与周围组织黏连, 偶有肿瘤破裂出血以急腹症表现而就诊入院[1]. 本组3例儿童患者中1例腹围增大, 2例上腹部疼痛, 其中1例伴发热, 查体均可触及腹部肿块, 其中2例因瘤体破溃出血而行急诊手术治疗. 成人病例仅有上腹部隐痛不适, 瘤体也相对较小, 未触及腹部肿块.

UESL的实验室化验检查亦无特异性. 虽然患者一般无肝炎和肝硬化等肝病背景, 但因为肿瘤体积多较大, 挤压周围正常肝组织, 肝功能可能有不同程度的异常, 如转氨酶升高等. 但UESL并没有特异性的血清肿瘤标志物, AFP、CEA和CA19-9等肿瘤标志物通常为阴性, 偶有因继发肝细胞增生而出现AFP轻度升高的情况[1]; 也有文献报道提及1例成人UESL患者化验提示糖抗原125升高[6]. 本组4例患者均无肝病背景, 肝功能化验结果基本正常, 肝炎病毒标志物和AFP等肿瘤标志物均为阴性.

UESL病灶多位于肝右叶, 直径约10-30 cm. >80%的UESL的超声图像是以实性为主的混合性回声包块. 典型的CT图像多表现为以囊性为主的囊实混合性占位病变, 边界较清, 具有延迟强化的特征[7]; 在MRI成像上表现为T1WI囊状低信号或高低信号混杂影, T2WI高信号影, 增强后动脉期病灶边缘强化, 门脉期及延迟期继续强化[8]. 由于瘤体内部分凝胶样实性区域在CT或MRI上表现为水样密度, 故病灶显示多以囊性为主. 这种超声和CT等影像学检查表现的不一致

■应用要点
本文主要是通过总结分析UESL的临床诊疗特点, 对UESL的诊断提供帮助, 并为UESL的临床治疗提供思路.

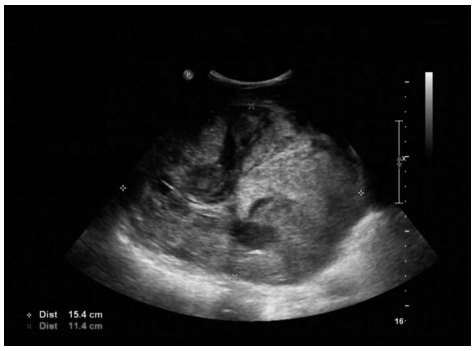


图 2 例2肝脏超声图像. 肝右叶见15 cm×13 cm×11 cm实性肿物, 形态不规整, 内呈中低回声伴不规则液性区.

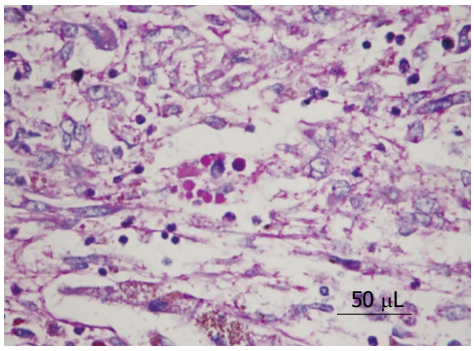


图 3 例4肝脏肿瘤免疫组织化学检测(PAS, ×400). 瘤细胞内嗜酸性小体PAS染色阳性.

表 1 4例UESL患者的临床资料

项目	病例1	病例2	病例3	病例4
性别	女	男	女	女
年龄(岁)	14	6	14	46
症状和体征				
腹痛	有	有	无	有
发热	无	有	有	
腹部肿块	可触及	可触及	可触及	未触及
肝硬化	无	无	无	无
其他合并症	无	无	无	系统性红斑狼疮
实验室检查:				
血常规	正常	WBC↑, RBC↓, HGB↓	WBC↑, RBC↓, HGB↓	正常
肝功能	ALB↓	AST↑, ALB↓	正常	正常
HBsAg	(–)	(–)	(–)	(–)
AFP等肿瘤标志物	(–)	(–)	(–)	(–)
影像学检查:				
肿瘤大小	16 cm×12 cm	15 cm×13 cm×11 cm	22 cm×20 cm×14 cm	6 cm×5 cm
超声诊断	肝囊性肿物	肝实性肿物	腹腔肿物	肝癌
CT诊断	肝囊腺癌	–	肝间叶源性恶性肿瘤	肝占位, 不除外转移瘤
病理组织学检查:				
肿瘤出血坏死	有	有	有	有
包膜	无	有	无	无
间质黏液变	无	有	有	无
嗜酸性小体	有	有	有	有
免疫组织化学检查				
Vimentin	(+)	(+)	(+)	(+)
AAT	(+)	(+)	(+)	(+)
CK	(–)	(–)	(–)	(–)
SMA	(–)	(–)	局灶(+)	(–)

WBC: 白细胞; RBC: 红细胞; HGB: 血红蛋白; AST: 谷草转氨酶; ALB: 白蛋白; HBsAg: B型肝炎表面抗原; AAT: α1–抗胰蛋白酶; CK: 细胞角蛋白, SMA: 平滑肌肌动蛋白.

性是本病的一个诊断特点[7,9]. 当瘤体内出血坏死占大部分时, 超声和CT等影像学检查均可以囊性为主[1].

由于EUSL的临床表现和辅助检查缺乏特异性, 术前确诊一般较困难, 病理组织学检查是确诊UESL的主要依据. 瘤组织切面常为暗红或多彩状, 可伴有囊性变、出血及坏死, 少数因压迫周围肝组织而形成假包膜. 镜下可见疏松的黏液基质中有梭形或星芒状的未分化间叶瘤细胞, 其间散在分布有瘤巨细胞, 单核或多核, 核

大畸形, 深染, 核分裂象多见. 瘤细胞可呈片状或束状排列, 有些可形成类似恶性纤维组织细胞瘤样、横纹肌肉瘤样、纤维肉瘤样的结构[10]. 免疫组织化学检测显示大多数UESL病灶弥漫性表达波形蛋白(vimentin)和α1-抗胰蛋白酶(α1-antitrypsin, AAT). 最具特征性的病理诊断依据是在较大的瘤细胞胞质中或细胞外基质中见大小不等的嗜酸性球形小体, PAS染色(periodic acid-schiff stain)为阳性. 此外, 部分病灶也可局灶性表达细胞角蛋白(cytokeratin, CK)、平滑肌肌动蛋白(smooth muscle actin, SMA)、结蛋白、CD68、肌红蛋白、S-100和CD34等[11]. 本组病例的免疫组织化学检测结果显示肿瘤细胞vimentin和AAT均为阳性表达, 1例SMA局灶阳性, 而CK等抗原为阴性, 说明肿瘤细胞为原始间叶组织细胞来源, 少数肿瘤细胞向平滑肌方向分化.

UESL需与多种肝脏良恶性肿瘤相鉴别: (1)恶性纤维组织细胞瘤: 主要发生于成人软组织内, 原发于肝脏者罕见, 临床表现无特异性, 主要依靠病理学检查鉴别; 一般由梭形细胞构成, 编织状或车辐状排列, 核分裂像多见, 无嗜酸性小体; (2)胚胎性横纹肌肉瘤: 主要发生于6岁以下婴幼儿, 肿瘤主要由不同阶段的横纹肌母细胞及原始间叶细胞构成, 免疫组织化学AAT阴性; (3)肝母细胞瘤: 主要发生于3岁以下的婴幼儿, CT多表现为实性巨大肿块, 常有坏死、出血, 半数病例可见瘤内不规则钙化, AFP常呈阳性; 肿瘤细胞由不成熟的肝细胞与原始间叶成分构成, 细胞异型性小, 核分裂象较少, 有的可见髓外造血灶[12]; (4)肝囊腺瘤或囊腺癌: CT表现为肝内低密度囊性肿块, 单囊或多囊改变, 囊内可有分隔和壁结节, 动脉期明显强化, 延迟期减退; 而UESL呈延迟期强化特点, 病灶内实性部分较囊腺瘤或癌多[8].

由于UESL恶性程度较高, 多数患者在就诊时肿瘤体积多已巨大, 故术后复发率高, 局部复发及远处转移较常见, 可转移至肺、脑、心和骨, 预后较差. 目前认为, 以手术完整切除肿瘤为基础的综合治疗是长期生存的关键, 如联合全身多药化疗, 可使肿瘤缩小, 提高手术根治切除率, 延长术后生存时间[9,13]. May等[14]报道5例儿童UESL患者采用手术切除联合VAC方案化疗及必要的放疗, 术后平均的无瘤生存时间达53 mo. 对于某些因化疗耐药而无法手术切除或切除术后复发的病例, 也有学者主张采用肝移植治疗[15]. 由于UESL血供一般较少, 单纯的TACE治疗效果尚不理想; 但有研究认为手术联合术后TACE的治疗效果要优于单纯的手术治疗[11]. 鉴于UESL的临床报道病例数仍然较少, 对于各种综合治疗的标准和效果尚需进一步的观察和总结.

■同行评价
本文目标明确, 设计尚合理, 实验数据较可靠, 具有创新性, 有一定的科学意义.

4 参考文献

1 Miettinen M, Fletcher CDM, Kindblom LG, Zimmermann A, Tsui WMS. Mesenchymal tumours of the liver. In: World Health Organization Classification of Tumours of the Digestive System (4th edition). *Lyon IARC Press* 2010; 241-250
2 Shattaf A, Jamil A, Khanani MF, El-Hayek M, Baroudi M, Trad O, Ishaqi MK. Undifferentiated sarcoma of the liver: a rare pediatric tumor. *Ann Saudi Med* 2012; 32: 203-205 [PMID: 22366834]
3 Cong WM, Dong H, Tan L, Sun XX, Wu MC. Surgicopathological classification of hepatic space-occupying lesions: a single-center experience with literature review. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 2372-2378 [PMID: 21633636 DOI: 10.3748/wjg.v17.i19.2372]
4 Tanaka S, Takasawa A, Fukasawa Y, Hasegawa T, Sawada N. An undifferentiated embryonal sarcoma of the liver containing adipophilin-positive vesicles in an adult with massive sinusoidal invasion. *Int J Clin Exp Pathol* 2012; 5: 824-829 [PMID: 23071865]
5 Kullar P, Stonard C, Jamieson N, Huguet E, Praseedom R, Jah A. Primary hepatic embryonal sarcoma masquerading as metastatic ovarian cancer. *World J Surg Oncol* 2009; 7: 55 [PMID: 19549298 DOI: 10.1186/1477-7819-7-55]
6 Houry S, Gharbi L, Huguier M, Callard P, André T. [Undifferentiated embryonal sarcoma in the liver of adults]. *Presse Med* 1998; 27: 518-520 [PMID: 9767962]
7 Qiu LL, Yu RS, Chen Y, Zhang Q. Sarcomas of abdominal organs: computed tomography and magnetic resonance imaging findings. *Semin Ultrasound CT MR* 2011; 32: 405-421 [PMID: 21963162 DOI: 10.1053/j.sult.2011.04.003]
8 赵国礼, 程红岩, 龙行安, 俞花. 肝未分化胚胎性肉瘤的CT及MRI表现. 中国医学影像技术 2009; 25: 107-109
9 秦红, 祝秀丹, 王焕民, 张金哲, 刘涛. 小儿肝脏未分化胚胎性肉瘤14例诊治分析. 中华肿瘤防治杂志 2009; 16: 1108-1110
10 何乐健, 路娣, 王琳, 刘念, 杜新宇. 13例肝未分化(胚胎性)肉瘤临床病理学观察. 诊断病理学杂志 2004; 11: 141-143
11 Li XW, Gong SJ, Song WH, Zhu JJ, Pan CH, Wu MC, Xu AM. Undifferentiated liver embryonal sarcoma in adults: a report of four cases and literature review. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 4725-4732 [PMID: 20872975 DOI: 10.3748/wjg.v16.i37.4725]
12 王倩, 李智. 肝未分化肉瘤的病理学特征与免疫组化表型分析. 中国病理生理杂志 2010; 26: 1012-1014
13 Lenze F, Birkfellner T, Lenz P, Hussein K, Länger F, Kreipe H, Domschke W. Undifferentiated embryonal sarcoma of the liver in adults. *Cancer* 2008; 112: 2274-2282 [PMID: 18361435 DOI: 10.1002/cncr.23431]
14 May LT, Wang M, Albano E, Garrington T, Dishop

M, Macy ME. Undifferentiated sarcoma of the liver: a single institution experience using a uniform treatment approach. *J Pediatr Hematol Oncol* 2012; 34: e114-e116 [PMID: 22217489 DOI: 10.1097/MPH.0b013e3182331fbe]

15 Plant AS, Busuttil RW, Rana A, Nelson SD, Auerbach M, Federman NC. A Single-institution Retrospective Cases Series of Childhood Undifferentiated Embryonal Liver Sarcoma (UELS): Success of Combined Therapy and the Use of Orthotopic Liver Transplant. *J Pediatr Hematol Oncol* 2012; Nov 6. *[Epub ahead of print]* [PMID: 23138115]

编辑 田滢 电编 闫晋利

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

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

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

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

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

世界华人消化杂志 2013年5月18日; 21(14): 1333-1338
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

IKKi在肝硬化相关肝细胞癌中的表达

郭 颖, 桑 伟, 张 巍, 范晓棠, 陈 兰, 阎道博, 卢 畅, 何方平

郭颖, 范晓棠, 陈兰, 阎道博, 何方平, 新疆医科大学第一附属医院肝病科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830011
桑伟, 张巍, 卢畅, 新疆医科大学第一附属医院病理科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830011
郭颖, 硕士, 主要从事消化系肿瘤的研究.
新疆维吾尔自治区科技支撑基金资助项目, No. 201141137
国家自然科学基金资助项目, Nos. C030107, 30760220
作者贡献分布: 论文撰写由郭颖与桑伟共同完成; 临床及病理资料收集、统计分级等由郭颖、范晓棠、陈兰、阎道博及何方平协同完成; 病理诊断、免疫组织化学分析由桑伟、张巍及卢畅完成操作; 何方平完成前期设计研究课题及校审工作.
通讯作者: 何方平, 教授, 主任医师, 博士生导师, 830011, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市新市区鲤鱼山南路137号, 新疆医科大学第一附属医院肝病科. hefp@sina.com
电话: 0991-4366305
收稿日期: 2013-03-05 修回日期: 2013-03-18
接受日期: 2013-03-29 在线出版日期: 2013-05-18

Expression of IKKi in cirrhosis-related hepatocellular carcinoma

Ying Guo, Wei Sang, Wei Zhang, Xiao-Tang Fan, Lan Chen, Dao-Bo Yan, Chang Lu, Fang-Ping He

Ying Guo, Xiao-Tang Fan, Lan Chen, Dao-Bo Yan, Fang-Ping He, Department of Hepatology, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Wei Sang, Wei Zhang, Chang Lu, Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Supported by: the Medical Science Project of Health Department of Xinjiang Uygur Autonomous Region, No. 201141137; and the National Natural Science Foundation of China, Nos. C030107, 30760220
Correspondence to: Fang-Ping He, Professor, Chief Physician, Department of Hepatology, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, 137 Liyushan Road, Xinshi District, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. hefp@sina.com
Received: 2013-03-05 Revised: 2013-03-18
Accepted: 2013-03-29 Published online: 2013-05-18

Abstract

AIM: To assess the clinical significance of IKKi protein expression in cirrhosis-related hepatocellular carcinoma (HCC).

METHODS: Immunohistochemistry was used to detect IKKi expression in 66 cirrhosis-related HCC specimens and matched tumor-adjacent cirrhosis specimens. The association of IKKi expression with clinical and pathological features of HCC was analyzed.

RESULTS: IKKi expression level was significantly higher in cirrhosis-related HCC than in tumor-adjacent cirrhosis tissue (P = 0.016). IKKi expression in HCC was positively correlated with tumor differentiation (P = 0.019, r = 0.278), age (P = 0.034, r = 0.261), Child - Pugh classification (P = 0.046, r =0 .246) and family history of hepatitis B (P = 0.017, r = 0.292), but was negatively correlated with tumor size (P = 0.011, r = -0.311).

CONCLUSION: Low expression of IKKi in HCC implies that IKKi may prevent the evolution of hepatitis B virus infection-viral hepatitis-cirrhosis-HCC.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Cirrhosis; Hepatocellular carcinoma; IKKi; Nuclear factor κB signaling pathway

Guo Y, Sang W, Zhang W, Fan XT, Chen L, Yan DB, Lu C, He FP. Expression of IKKi in cirrhosis-related hepatocellular carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(14): 1333-1338 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1333.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i14.1333

摘要

目的: 研究核因子κB(nuclear factor κB, NF-κB)信号通路中IKKi蛋白在肝硬化相关肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)中的表达水平及其临床病理意义.

方法: 采用免疫组织化学方法检测66例肝硬化相关HCC IKKi蛋白表达, 同一病例癌旁肝硬化组织作为对照, 收集患者临床病理资料, 分析HCC IKKi蛋白表达水平以及与临床病理参数的关系.

结果: (1)IKKi在HCC与癌旁肝硬化组织表达水平有明显差异性(P = 0.016), IKKi在癌周肝硬化组织表达强度明显强于HCC; (2)IKKi在HCC中的表达水平与肿瘤分化程度呈正相关, 即IKKi表达水平越低, HCC分化程度越低(P = 0.019, r = 0.278); 与肿瘤直径呈负相关, 即

■背景资料
肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的发生与慢性炎症长期作用密切相关, 而核因子κB(nuclear factor κB, NF-κB)信号通路中IKKi因子的异常表达在调控炎症与肿瘤发生中发挥着重要作用. IKKi作为干扰素前体的刺激因子, 其高表达有利于病原体的清除, 进一步研究其表达水平为HCC免疫靶向治疗提供新方向.

■同行评议者
姚登福, 教授, 南通大学附属医院

■研发前沿
目前已有文献研究分析HCC发生过程中炎症相关信号通路机制, 但对于先天性免疫机制在HCC进展过程中的重要作用存在争议, 且目前相关文献报道较少.

IKKi表达水平越低, 肿瘤体积越大(P = 0.011, r = -0.311); (3)IKKi在HCC中的表达水平与年龄(P = 0.034, r = 0.261)、Child-Pugh分级(P = 0.046, r = 0.246)、乙型肝炎家族史(P = 0.017, r = 0.292)呈正相关.

结论: IKKi在HCC表达下调提示IKKi在乙型肝炎病毒感染-病毒性肝炎-肝硬化-HCC的发生中可能起抑制肿瘤形成的作用.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 肝硬化; 肝细胞癌; IKKi; 核因子κB信号通路

核心提示: IKKi在肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)表达下调提示IKKi在乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染-病毒性肝炎-肝硬化-HCC的发生中可能起抑制肿瘤形成的作用, 这对于由HBV感染引起的HCC提供了一个免疫靶向治疗的新方向.

郭颖, 桑伟, 张巍, 范晓棠, 陈兰, 阎道博, 卢畅, 何方平. IKKi在肝硬化相关肝细胞癌中的表达. 世界华人消化杂志 2013; 21(14): 1333-1338 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1333.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i14.1333

0 引言

近年来多项研究表明, 核因子κB(nuclear factor κB, NF-κB)信号通路是炎症与肿瘤之间的桥梁[1], 认为NF-κB信号通路属于先天性免疫通路, 在清除病原体过程中, 通过诱导炎症发生, 刺激机体产生干扰素, 而达到病原清除[2]. 近年来, NF-κB信号通路中IKKi因子的异常表达在调控炎症与肿瘤发生中发挥着重要作用[3]. IKKi是报道较少的一个NF-κB上游信号通路分子, 作为干扰素前体3、5、7的刺激因子, IKKi高表达有利于病原体的清除, 但在正常生理情况下, IKKi几乎不表达, 肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)发生与肝脏长期慢性炎症密切相关, 有关IKKi在HCC表达的研究文献很少. 本课题组选择的HCC病例均有乙型肝炎病史, 病理提示HCC均在肝硬化基础上发生的肝癌, 我们希望通过分析NF-κB通路相关因子IKKi在HCC表达水平以及与肿瘤分化程度、家族史、肿瘤大小等临床病理参数的相关性, 探讨IKKi在肝硬化基础上发生的HCC中的作用.

1 材料和方法

1.1 材料 2007-2010年新疆医科大学第一附属医院HCC手术切除组织66份, 经病理证实为HCC, 符合肝癌临床诊断标准[4], 每份均含有HCC组织和癌旁肝硬化组织, 癌旁肝硬化符合肝硬化临床诊断金标准[5], 患者均为乙型肝炎肝硬化基础上发生的肝细胞性肝癌, 术前均未接受过生物性治疗及其放化疗. 根据2009年WHO肝脏和肝内胆管肿瘤组织学分类标准, 将HCC分为高分化、中分化和低分化. 免疫组织化学相关试剂购自上海恒菲生物科技有限公司.

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学: 所有标本均经4%中性甲醛固定, 常规组织处理, 石蜡包埋, 3 μm厚连续切片, 常规HE染色. 采用Envision法进行IKKi染色, DAB显色, 苏木素复染. 用已知阳性切片作阳性对照, 以磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗作阴性对照. IKKi兔抗人多克隆抗体浓缩液, 稀释度为1∶100.

1.2.2 结果判定: 光镜下半定量结果判断的方法. 胞浆呈棕褐色颗粒为阳性结果, 根据Beesley分级方法[6], 按阳性细胞所占百分比并参考着色强度确定分级如下: 每张切片随机选10个高倍视野. 阳性细胞数<10%为阴性(-), 阳性细胞为11%-25%为弱阳性(+), 阳性细胞数为26%-50%为中度阳性(++), 阳性细胞数为>51%为强阳性(+++).

统计学处理 采用SPSS17.0统计软件进行统计学处理. IKKi在肝癌及癌旁肝硬化表达差异性的比较采用秩和检验; IKKi在肝癌及癌旁肝硬化表达程度与临床指标相关性分析采用Spearman等级资料相关性分析. 以P<0.05表示差异有统计学意义.

2 结果

2.1 66例HCC患者临床资料 汉族54例, 维吾尔族4例, 哈萨克族3例, 回族3例; 男54例, 女12例, 男女比例: 4.5∶1; 年龄9-74岁, 年龄中位数51岁; 合并高血压者13例, 未合并高血压者53例; 合并糖尿病8例, 未合并糖尿病58例; 有乙型肝炎家族史8例, 无乙型肝炎家族史58例; 有肿瘤家族史9例, 无肿瘤家族史57例; 血清白蛋白<28 g/L 8例, 28-35 g/L 25例, >35g/L 35例; 谷草转氨酶<40 U/L 37例, ≥40 U/L 29例; 谷丙转氨酶<40 U/L 34例, ≥40 U/L 32例; 球蛋白<25 g/L 23例, 25-35 g/L 35例, >35 g/L 8例; 空腹血糖<6.1 mmol/L 52例, ≥6.1 mmol/L 14例; 甲胎蛋白<200 μg/L 32例, ≥200 μg/L 34例; 总胆红素<34 μmol/L 60例, ≥34 μmol/L 66例; 肿瘤直径<5 cm 42例, >5 cm

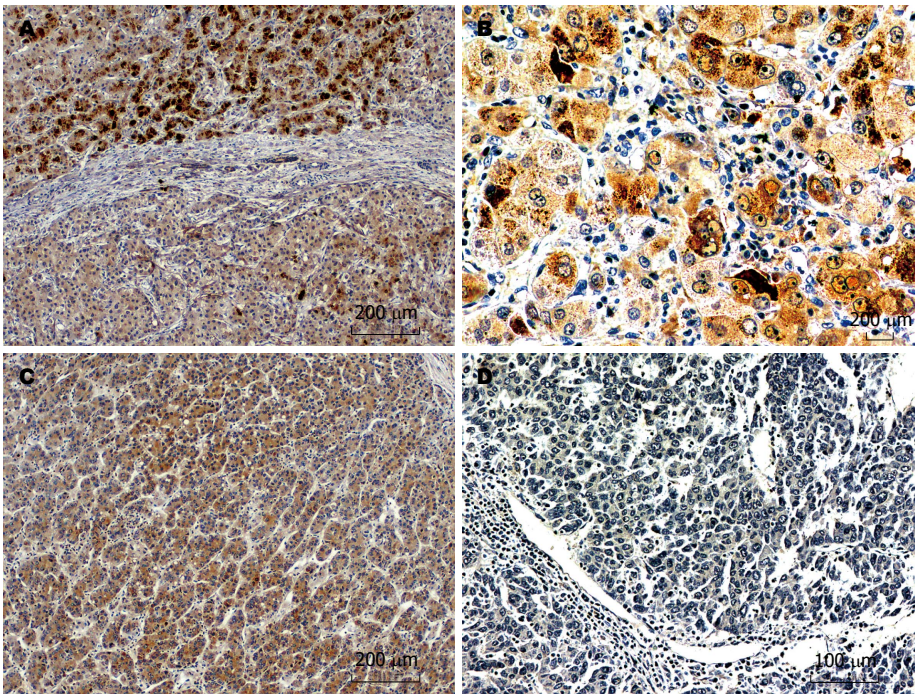


图 1 IKKi在HCC中的表达. A: IKKi在HCC和癌周肝硬化组织中的表达(×200), 上方: 肝硬化, 下方: HCC; B: HCC(IKKi表达)炎细胞浸润(×400); C: 高分化HCC高表达IKKi(×200); D: 低分化HCC低表达IKKi(×100). HCC: 肝细胞癌.

■相关报道 Fabregat等提出Cyclin D1在肝癌组的平均表达指数明显高于肝硬化组及正常对照组, 与NF-κB在细胞中的表达呈显著正相关, 提示NF-κB在HCC的发生中主要通过上调细胞增殖调控基因Cyclin D1实现的.

表 1 IKKi在肝癌和肝硬化中的表达水平差异性 (*n*)

		IKKi在肝细胞癌组织中的表达水平				合计	*Z*值	*P*值
		0	1	2	3			
IKKi在癌旁肝	0	0	1	1	4	6		
硬化组织中	1	2	1	0	0	3		
的表达水平	2	1	0	4	2	7		
	3	10	4	7	29	50		
合计		13	6	12	35	66	–0.2416	0.016

23例; 肿瘤个数: 1个58例, ≥2个8例; 肝功Child-pugh分级: A级50例, B级16例; 有腹水35例, 无腹水32例; 肝癌分化程度: 低分化30例, 中分化27例, 低分化9例.

2.2 IKKi在HCC及癌周肝硬化组织中表达特征 IKKi在HCC和癌周肝硬化组织均有表达, IKKi在HCC表达水平与癌周肝硬化组织表达差异有统计学意义, 表现为IKKi在癌旁肝硬化组织表达水平明显强于HCC组织(图1A), 且在IKKi表达的HCC周围常有炎细胞浸润(图1B), 提示IKKi在介导炎症中发挥着重要作用(表1).

2.3 HCC中IKKi表达程度临床病理学特征 评估参数包括: 年龄、性别、族别、高血压、糖尿病、Child-pugh分级、乙型肝炎家族史、谷草转氨酶、谷丙转氨酶、白蛋白、球蛋白、甲胎球蛋白、肿瘤大小、肿瘤个数、腹水和肿瘤病理分级. 结果显示: IKKi表达水平与肝癌分化程度、年龄、Child-pugh评分、患者乙型肝炎家族史呈正相关($P<0.05$), 即IKKi在高分化的HCC中高表达, 在低分化的HCC中低表达(图1C, D); IKKi表达水平与肿瘤直径呈负相关性($P<0.05$), 以上均提示IKKi在抑制HCC发展方面发挥作用; IKKi表达水平与性别、族别、高血压、糖尿病、白蛋白、球蛋白、胆红素、甲胎球蛋白均无相关性($P>0.05$). 具有临床意义(统计学差异)的参数如表2.

3 讨论

尽管100多年以前提出慢性炎症与癌症相关, 但近几年才关注一些通路及因子在两者之间的关系[7]. 引发HCC具有多种因素, 包括高龄、遗传背景、黄曲霉素摄入、病毒感染、大量酗酒, 2型糖尿病和肥胖等, 其中乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染-病毒性肝炎-肝硬化-HCC是HCC发生的重要机制之一. 当病毒侵入体内, 可诱发肝内的慢性炎症, 进而释放炎症介质, 激活

■创新盘点

HCC的发生与慢性炎症的持续作用有关, NF-κB信号通路作为炎症与肿瘤的关键桥梁一直是研究热点, 但对于其关键调节因子IKKi的研究较少, 本文就IKKi在HCC的异常表达结合临床病理因素进行分析, 阐述IKKi抑制肿瘤的作用.

表 2 IKKi在肝细胞癌及癌旁肝硬化表达水平与临床及病理因素的关系

临床病理因素	*n*	IKKI肝癌				*r*值	*P*值
		0	1	2	3		
性别						−0.16	0.199
男	54	12	3	7	32		
女	12	1	3	5	3		
年龄(岁)						0.261	0.034
<51	31	6	4	7	12		
≥51	35	5	2	5	23		
民族						0.033	0.795
汉族	52	11	5	11	29		
维吾尔族	4	1	0	0	2		
哈萨克族	3	0	1	1	1		
回族	3	1	0	0	3		
高血压						−0.115	0.396
有	13	2	2	0	9		
无	53	11	4	12	26		
糖尿病						−0.156	0.211
有	8	1	0	1	6		
无	58	12	6	11	29		
Child-pugh分级						0.246	0.046
A级	50	12	6	11	21		
B级	16	1	0	1	14		
乙型肝炎家族史						0.292	0.017
有	8	5	0	1	2		
无	58	8	6	11	33		
肿瘤家族史						0.155	0.215
有	9	4	1	0	4		
无	57	9	5	12	31		
血红蛋白(g/L)						−0.149	0.118
<90	5	0	0	0	3		
≥90	61	13	6	12	32		
血小板						−0.039	0.753
$<50\times10^9$/L	3	1	0	1	3		
$\geq50\times10^9$/L	63	12	6	11	32		
总胆红素(μmol/L)						0.154	0.216
<34	60	12	6	12	30		
≥34	6	1	0	0	5		
PT活动度						−0.198	0.111
<75%	23	0	2	4	17		
≥75%	33	13	4	8	18		
球蛋白(g/L)						−0.153	0.219
<25	23	7	2	2	12		
25-35	35	6	3	8	18		
>35	8	0	1	2	5		
空腹血糖(mmol/L)						0.018	0.885
<6.1	52	10	5	10	27		
≥6.1	14	3	1	2	8		
甲胎蛋白(ng/mL)						0.002	0.987
<200	32	6	3	7	16		
≥200	34	7	3	5	19		
肿瘤直径(cm)						−0.311	0.011
<5	43	5	5	7	25		
≥5	23	8	1	5	10		

肿瘤个数(个)						0.134	0.282
1	58	13	5	13	28		
≥2	8	0	1	1	7		
腹水						0.113	0.368
有	35	9	3	6	17		
无	31	4	3	6	18		
分化程度						0.287	0.019
低分化	30	8	3	9	10		
中分化	27	3	3	3	18		
高分化	9	2	0	0	7		

炎症信号转导通路引起后续大分子物质的致癌致突变作用[8]. 有研究表明, 炎症的发生, 尤其是慢性炎症持续状态可以促进肿瘤的发生和发展, 当机体发生炎症时细胞分泌的大量炎症介质, 彼此激活后能够趋化吸引多种炎症细胞聚集于炎症发生部位, 引发级联反应, 形成发生部位特殊的炎症性微环境, 细胞中固有的修复程序也受到炎症性微环境的影响而混乱失效, 最终导致炎症局部癌变的发生[9]. 本研究结果也符合以上结论, 炎症作用在HCC的发病及进展过程中起到了促进与增强的作用, HCC组织中伴随有大量炎细胞浸润, 相关的炎症信号通路起到了决定性作用.

HBV病毒感染引起慢性活动性肝炎可激活体内的炎症信号转导通路, 进而产生下游的级联反应, 其中包括NF-κB通路的激活, 该通路激活可导致一系列与肿瘤相关基因的异常表达, 从而推动正常细胞转化、抑制细胞凋亡引起HCC的发生[10]. NF-κB信号通路他可以诱导几个关键分子参与清除病原体的过程, 其中一些因子如肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)涉及到细胞生存、增殖和血管生长, 因此他们可以与肿瘤形成有关[11-13]. 该通路的激活可导致一系列与肿瘤相关基因的异常表达,从而推动正常细胞转化、抑制肿瘤细胞凋亡、促进肿瘤血管形成和转移等, 直接或间接影响恶性肿瘤的发生和发展. NF-κB通路上生物活性物质的模板基因具有多态性, 在转录和翻译合成蛋白质的过程中可对多肽链中氨基酸的排列顺序产生影响, 使其生物活性和功能发生改变: 这些变化可造成其控制的相关细胞因子转录水平发生改变, 进而影响细胞因子的表达, 此过程中的多种细胞因子及炎症因子有能够进一步激活NF-κB信号通路, 如此反复循环, 形成正反馈放大机制, 通过NF-κB的抑制细胞凋亡促进细胞转化的作用进而选择性的存进癌前期细胞的存活, 只是肝细胞基因受损严重最终发展至HCC.

IKKi是NF-κB通路的配体基因, 他在介导炎症以及微生物的清除过程中起到重要作用[14]. 当病毒和细菌进入机体后, 通过特定受体-配体结合激活IKKi, 激活下游相关因子完成宿主感染细胞的清除. 这些过程包括蛋白转录和细胞周期的关闭, 受损细胞死亡, 血细胞调节(如树突细胞的激活), 特别的是诱导干扰素Ⅰ(interferons Ⅰ, IFN Ⅰ)的积累[15]. 目前IKKi在HCC中的具体作用机制还不清楚. 我们的研究提示IKKi在肝硬化患者中起到阻止HCC发生的作用. Cyclin D1是NF-κB通路中的一个引起细胞增殖的因子, IKKi突变可诱导Cyclin D1高表达, 说明IKKi在NF-κB通路中抑制细胞增殖, 有实验还显示IKKi可以降低乳腺癌细胞在软琼脂中生长和对基底膜基质的侵犯, 提示IKKi可能是肿瘤抑制因子. 也有研究表明IKKi在乳腺癌过表达, IKKi可以通过磷酸化Thr308和Ser473两个靶点直接激活Akt通路, 提示IKKi在乳腺癌形成中起重要作用[16]. 前列腺癌研究显示IKKi通过诱导IL-6支持炎症和维护肿瘤微环境, 认为IKKi是促进前列腺癌形成的潜在因子.

本实验结果显示正常肝细胞不表达IKKi, 而IKKi在HCC和癌周肝硬化组织中均有表达, 在IKKi表达的HCC周围常有炎细胞浸润, 提示IKKi在介导炎症中发挥着重要作用. 本实验组选取的66例HCC病例均有乙型肝炎病史, 病理提示66例HCC均在肝硬化基础上发生的肝癌, 研究显示癌周肝硬化组织IKKi表达强度明显强于HCC, IKKi在HCC表达下调提示IKKi在HBV感染-病毒性肝炎-肝硬化-HCC的发生中可能起抑制肿瘤形成的作用. IKKi在HCC表达水平与肝癌分化程度呈正相关, 即IKKi表达水平越低, HCC分化程度越低, 这结果更支持IKKi在HCC

■应用要点

IKKi作为先天性免疫信号通路上的关键调节因子, 在正常肝组织中不表达, 在HCC中低表达, 如果在临床中能通过免疫组织化学方法检测其表达水平, 对于HCC的早期诊断及治疗有重要意义.

■名词解释

IKKi: NF-κB通路的配体基因, 属于IκB激酶的一种, 在介导炎症以及微生物的清除过程中起到重要作用.

■同行评价
本文对了解先天性免疫与肿瘤方面的关系具有一定参考价值.

中的作用, 即IKKi表达越低, 抵抗肿瘤效果越差, 肿瘤分化越差. 临床病理资料分析还显示: IKKi表达水平与肝癌分化程度、年龄、Child-pugh评分、患者乙型肝炎家族史呈正相关, IKKi表达水平与肿瘤直径呈负相关性, 其中IKKi表达水平与肿瘤大小呈负相关性也支持IKKi在抵抗HCC中的作用, 即IKKi表达水平越低, 抵抗肿瘤效果越差, 肿瘤体积越大.

IKKi在HCC中可能起抑制肿瘤形成的作用, 这可能依赖于诱导IFNⅠ发挥效应. IFNⅠ是一种由病毒感染诱导产生, 能够抑制病毒复制的一类高活性糖蛋白. 研究发现, INF具有多种生物活性, 不仅有抗病毒、调节免疫的作用, 还有抗肿瘤的效果. IFN Ⅰ可以有效地抑制肿瘤细胞增生、促进肿瘤细胞凋亡、抑制癌基因表达、抑制肿瘤转移, 目前作为辅助因子与其他抗癌药物一起协同对抗肿瘤. 本实验未检测HCC IFNⅠ的表达水平以及IFNⅠ与IKKi的相关性, 这是本实验一个缺陷, 下一步实验我们将检测HCC IFNⅠ的表达水平以及两者表达的关系, 如两者表达呈正相关, 更好地提示IKKi可能通过诱导IFNⅠ的表达对抗肿瘤. IKKi表达下调, 是由*IKKi*本身基因学改变引起, 还是*IKKi*上游基因出现异常导致IKKi蛋白表达失调, 需要进一步实验证实. 尽管IKKi蛋白表达失调机制有待研究, 但本次研究提示IKKi在HBV感染-病毒性肝炎-肝硬化-HCC中可能起抑制肿瘤作用, 这一发现对于由HBV感染引起的HCC提供了一个免疫靶向治疗的新方向.

4 参考文献

1 Kim HR, Lee SH, Jung G. The hepatitis B viral X protein activates NF-kappaB signaling pathway through the up-regulation of TBK1. *FEBS Lett* 2010; 584: 525-530 [PMID: 19958770 DOI: 10.1016/j.febslet.2009.11.091]
2 王以浪, 姚登福, 吴玮, 于洪波, 赛文莉, 钱静, 李姗姗, 卞银珠. 肝癌组织核转录因子-κB表达与HBV复制及其临床病理学特征. 世界华人消化杂志 2009; 17: 265-269
3 He G, Karin M. NF-κB and STAT3 - key players in liver inflammation and cancer. *Cell Res* 2011; 21: 159-168 [PMID: 21187858 DOI: 10.1038/cr.2010.183]
4 中华抗癌协会肝癌专业委员会. 原发性肝癌的临床诊断与分期标准. 中华肝脏病杂志 2001; 9: 324
5 Beesley MF, McLaren KM. Cytokeratin 19 and galectin-3 immunohistochemistry in the differential diagnosis of solitary thyroid nodules. *Histopathology* 2002; 41: 236-243 [PMID: 12207785 DOI: 10.1046/j.1365-2559.2002.01442.x]
6 Narayan C, Kumar A. Constitutive over expression of IL-1β, IL-6, NF-κB, and Stat3 is a potential cause of lung tumorgenesis in urethane (ethyl carbamate) induced Balb/c mice. *J Carcinog* 2012; 11: 9 [PMID: 22919282 DOI: 10.4103/1477-3163.98965]
7 Vucur M, Roderburg C, Bettermann K, Tacke F, Heikenwalder M, Trautwein C, Luedde T. Mouse models of hepatocarcinogenesis: what can we learn for the prevention of human hepatocellular carcinoma? *Oncotarget* 2010; 1: 373-378 [PMID: 21307402]
8 Lu H, Ouyang W, Huang C. Inflammation, a key event in cancer development. *Mol Cancer Res* 2006; 4: 221-233 [PMID: 16603636 DOI: 10.1158/1541-7786]
9 Murakami S. Hepatitis B virus X protein: a multifunctional viral regulator. *J Gastroenterol* 2001; 36: 651-660 [PMID: 11686474]
10 Karin M. The IκB kinase - a bridge between inflammation and cancer. *Cell Res* 2008; 18: 334-342 [DOI: 10.1038/cr.2008.30]
11 Péant B, Forest V, Trudeau V, Latour M, Mes-Masson AM, Saad F. IκB-Kinase-ε (IKKε/IKKi/IκBKε) expression and localization in prostate cancer tissues. *Prostate* 2011; 71: 1131-1138 [PMID: 21271611 DOI: 10.1002/pros.21329]
12 Ancrile BB, O'Hayer KM, Counter CM. Oncogenic ras-induced expression of cytokines: a new target of anti-cancer therapeutics. *Mol Interv* 2008; 8: 22-27 [PMID: 18332481]
13 Lee SH, Kim JS, Jun HK, Lee HR, Lee D, Choi BK. The major outer membrane protein of a periodontopathogen induces IFN-beta and IFN-stimulated genes in monocytes via lipid raft and TANK-binding kinase 1/IFN regulatory factor-3. *J Immunol* 2009; 182: 5823-5835 [PMID: 19380831 DOI: 10.4049/jimmunol.0802765]
14 Clément JF, Meloche S, Servant MJ. The IKK-related kinases: from innate immunity to oncogenesis. *Cell Res* 2008; 18: 889-899 [PMID: 19160540 DOI: 10.1038/cr.2008.273]
15 Guo JP, Coppola D, Cheng JQ. IKBKE protein activates Akt independent of phosphatidylinositol 3-kinase/PDK1/mTORC2 and the pleckstrin homology domain to sustain malignant transformation. *J Biol Chem* 2011; 286: 37389-37398 [PMID: 21908616 DOI: 10.1074/jbc.M111.287433]
16 Péant B, Diallo JS, Dufour F, Le Page C, Delvoye N, Saad F, Mes-Masson AM. Over-expression of IkappaB-kinase-epsilon (IKKepsilon/IKKi) induces secretion of inflammatory cytokines in prostate cancer cell lines. *Prostate* 2009; 69: 706-718 [PMID: 19170126 DOI: 10.1002/pros.20912]

编辑 田滢 电编 闫晋利

世界华人消化杂志 2013年5月18日; 21(14): 1339-1342
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

乌司他丁与加倍酯治疗急性胰腺炎的疗效比较

白一彤, 郭晓钟, 李宏宇, 邵晓冬, 崔忠敏, 王 迪, 赵佳钧

白一彤, 郭晓钟, 李宏宇, 邵晓冬, 崔忠敏, 王迪, 赵佳钧, 中国人民解放军沈阳军区总医院消化内科 辽宁省沈阳市 110016
白一彤, 主要从事急慢性胰腺炎的发病机制及临床研究.
作者贡献分布: 此课题由白一彤与郭晓钟设计; 资料统计由白一彤、李宏宇、邵晓冬、崔忠敏、王迪及赵佳钧共同完成; 数据分析由白一彤完成; 本论文写作由白一彤完成.
通讯作者: 郭晓钟, 教授, 主任医师, 110016, 辽宁省沈阳市沈河区文化路83号, 中国人民解放军沈阳军区总医院消化内科.
baiyt_2008@163.com
收稿日期: 2013-03-04 修回日期: 2013-03-29
接受日期: 2013-04-12 在线出版日期: 2013-05-18

Therapeutic effect of ulinastatin *vs* gabexate mesilate in management of acute pancreatitis

Yi-Tong Bai, Xiao-Zhong Guo, Hong-Yu Li, Xiao-Dong Shao, Zhong-Min Cui, Di Wang, Jia-Jun Zhao

Yi-Tong Bai, Xiao-Zhong Guo, Hong-Yu Li, Xiao-Dong Shao, Zhong-Min Cui, Di Wang, Jia-Jun Zhao, Department of Gastroenterology, Shenyang General Hospital of PLA, Shenyang 110016, Liaoning Province, China
Correspondence to: Xiao-Zhong Guo, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Shenyang General Hospital of PLA, 83 Wenhua Road, Shenhe District, Shenyang 110016, Liaoning Province, China. baiyt_2008@163.com
Received: 2013-03-04 Revised: 2013-03-29
Accepted: 2013-04-12 Published online: 2013-05-18

Abstract

AIM: To compare the therapeutic effect of ulinastatin *vs* gabexate mesilate in the management of acute pancreatitis.

METHODS: One hundred and twenty-four patients with acute pancreatitis who were treated by gabexate mesilate and/or ulinastatin were enrolled. The time required for the relief of symptoms, signs and for the recovery of laboratory parameters after medication were compared between the two groups.

RESULTS: Compared to ulinastatin treatment, treatment with gabexate mesilate was associated with shorter time required for the relief of symptom, signs (3.72 d ± 1.84 d *vs* 6.56 d ± 3.25 d; 5.89 d ± 2.51 d *vs* 9.58 d ± 3.54 d, both $P < 0.05$) and for the recovery of amylase, WBC, GR% (4.83 d ± 1.13 d *vs* 7.52 d ± 2.89 d; 6.23 d ± 2.10 d *vs* 9.23 d ± 3.56 d; 8.01 d ± 1.58 d *vs* 12.12 d ± 2.56 d; all $P < 0.05$) in patients with biliary pancreatitis; however, these parameters showed no significant difference in patients with non-biliary pancreatitis. Combined use of gabexate mesilate and ulinastatin could significantly shorten the time required for the relief of symptoms, signs (3.15 d ± 1.23 d *vs* 5.78 d ± 2.56 d; 4.12 d ± 0.55 d *vs* 7.25 d ± 2.12 d, both $P < 0.05$) and for the recovery of amylase, lipase, WBC, GR% (4.22 d ± 1.77 d *vs* 7.18 d ± 2.25 d; 8.23 d ± 1.36 d *vs* 14.56 d ± 2.03 d; 4.23 d ± 2.56 d *vs* 8.89 d ± 2.35 d; 6.87 d ± 0.79 d *vs* 11.23 d ± 2.03 d; 7.89 d ± 1.24d *vs* 11.23 d ± 2.75 d; all $P < 0.05$) and blood glucose.

CONCLUSION: Both gabexate mesilate and ulinastatin are effective in the management of acute pancreatitis; however, their therapeutic effects differ significantly between patients with biliary pancreatitis and those with non-biliary pancreatitis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Acute pancreatitis; Gabexate mesilate; Ulinastatin

Bai YT, Guo XZ, Li HY, Shao XD, Cui ZM, Wang D, Zhao JJ. Therapeutic effect of ulinastatin *vs* gabexate mesilate in management of acute pancreatitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(14): 1339-1342 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1339.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i14.1339

摘要

目的: 回顾性比较及分析乌司他丁与加倍酯治疗急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)的疗效.

方法: 回顾我院2008-2012年收治的AP患者, 筛选应用乌司他丁和/或加倍酯的患者共124例, 比较其用药后症状(腹痛)、体征(腹部压痛)及实验室指标恢复正常所需的时间.

结果: 胆源性胰腺炎应用加倍酯较单用乌司他丁, 其血淀粉酶、白细胞、中性粒细胞分数

■背景资料
急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是指胰酶被激活后引起的胰腺组织自身消化的化学性炎症, 是临床常见的急腹症, 发病急, 可导致多器官功能衰竭. 我国AP患者常见的发病诱因包括胆石症、大量饮酒、暴饮暴食、脂代谢异常等. 本文主要针对不同的胰酶抑制剂对AP疗效比较, 拟在总结经验, 进一步指导临床用药.

■同行评议者
宋振顺, 教授, 西京医院肝胆外科; 沈薇, 教授, 重庆医科大学附属第二医院消化内科

■研发前沿
胰酶抑制剂是治疗AP的常用药物, 近年来类似药物层出不穷, 不同胰酶抑制剂的作用机制及如何正确选择用药成为AP治疗的焦点.

恢复正常所需时间(4.83 d±1.13 d *vs* 7.52 d±2.89 d; 6.23 d±2.10 d *vs* 9.23 d ±3.56 d; 8.01 d±1.58 d *vs* 12.12 d±2.56 d)及症状、体征缓解时间(3.72 d±1.84 d *vs* 6.56 d±3.25 d; 5.89 d±2.51 d *vs* 9.58 d±3.54 d)明显缩短, 差异显著, 有统计学意义(P<0.05). 非胆源性胰腺炎单用加倍酯或乌司他丁其临床症状、体征缓解时间及各实验室指标恢复正常所需时间均无明显差异. 联合应用乌司他丁与加倍酯可明显缩短血淀粉酶、脂肪酶、白细胞、中性粒细胞分数、血糖恢复时间(4.22 d±1.77 d *vs* 7.18 d±2.25 d; 8.23 d±1.36 d *vs* 14.56 d±2.03 d; 4.23 d±2.56 d *vs* 8.89 d±2.35 d; 6.87 d±0.79 d *vs* 11.23 d±2.03 d; 7.89 d±1.24d *vs* 11.23 d±2.75 d)及腹痛、腹部压痛缓解时间(3.15 d±1.23 d *vs* 5.78 d±2.56 d; 4.12 d±0.55 d *vs* 7.25 d±2.12 d), 差异显著, 有统计学意义(P<0.05).

结论: 加倍酯及乌司他丁均可有效的治疗急性胰腺炎, 针对胰腺炎是否为胆源性, 其作用疗效不同. 因此, 针对胰腺炎的诱发原因选用不同的抑酶制剂, 可取得事半功倍的效果.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 急性胰腺炎; 加倍酯; 乌司他丁

核心提示: 胆源性胰腺炎应用加倍酯较单用乌司他丁, 其血淀粉酶、白细胞、中性粒细胞分数恢复正常所需时间及症状、体征缓解时间明显缩短. 非胆源性胰腺炎联合应用乌司他丁与加倍酯较单用二者之一可明显缩短血淀粉酶、脂肪酶、白细胞、中性粒细胞分数、血糖恢复时间及腹痛、腹部压痛缓解时间.

白一彤, 郭晓钟, 李宏宇, 邵晓冬, 崔忠敏, 王迪, 赵佳钧. 乌司他丁与加倍酯治疗急性胰腺炎的疗效比较. 世界华人消化杂志 2013; 21(14): 1339-1342 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1339.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i14.1339

■创新盘点
胰酶抑制剂治疗AP临床应用广泛, 但针对不同诱因的AP如何选择胰酶制剂研究甚少. 本文将入组的AP患者分为胆源性组与非胆源性组, 分别对两组患者应用不同的胰酶抑制剂进行疗效比较. 拟在进一步指导临床合理用药.

0 引言

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是临床常见急腹症, 发病急, 病情进展迅速, 易出现全身并发症, 严重者可导致多器官功能衰竭, 如治疗不当可危及患者生命. 临床上按病情严重程度将AP分为轻型急性胰腺炎(mild acute pancreatitis, MAP)与重型急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP). 本研究选取MAP患者, 根据是否为胆源性诱发, 对两种抑酶制剂, 即加倍酯与乌司他丁进行疗效对比, 旨在发现两种药物MAP的疗效差异, 以进一步指导临床合理用药.

1 材料和方法

1.1 *材料* 选取我院2008-2012年收治的MAP患者共124例, 男56例, 女68例, 年龄18-65岁, 平均年龄45.21岁±12.25岁. 其中胆源性胰腺炎65例, 非胆源性胰腺炎59例. 所选病例均符合2012-02中国消化疾病诊治指南和共识意见对AP的诊断标准. 由于MAP与SAP在临床症状、体征、实验室检查、影像学检查、其他器官功能障碍及远期预后等方面均存在较大差异, 为使组间均衡可比, 本研究纳入患者均为MAP. 即具备AP的临床表现和生化改变, 无器官功能障碍或局部并发症. Ranson评分<3, 或APACHE Ⅱ<8, 或CT分级为A、B、C. 由于近年来生长抑素在临床上的广泛应用, 为避免对本次研究结果造成影响, 筛选病例时, 均剔除应用生长抑素者. 旨在单独分析加倍酯与乌司他丁对MAP的疗效差异. 分组: 乌司他丁组; 加倍酯组; 乌司他丁联合加倍酯组.

1.2 *方法*

1.2.1 *治疗方法*: 所有入组患者均给予早期禁食水、胃肠减压、抑酸、抗炎、营养支持等综合治疗. 乌司他丁组在综合治疗的基础上给予乌司他丁20万单位, 加入0.9%氯化钠溶液500 mL中, 1次/d静脉点滴. 加倍酯组在综合治疗的基础上给予加倍酯0.3 g, 加入5%葡萄糖溶液500 mL中, 1次/d静脉点滴. 乌司他丁联合加倍酯组在综合治疗的基础上联合应用上述两种药物.

1.2.2 *观察指标*: 血清淀粉酶、脂肪酶、白细胞、中性粒细胞分数、C-反应蛋白、血糖、血钙恢复时间, 及腹痛、上腹部压痛缓解时间的指标差异.

1.2.3 *治疗有效指标*: 血清淀粉酶、脂肪酶、白细胞、中性粒细胞分数、C-反应蛋白、血糖、血钙水平恢复至正常范围. 临床症状: 腹痛消失; 体征: 腹部压痛消失.

统计学处理 各参数以mean±SD表示, 经方差齐性检验后, 采用t检验. 应用SPSS17.0统计软件进行统计学分析, P<0.05为差异具有统计学意义.

2 结果

胆源性胰腺炎患者加倍酯组与乌司他丁组比较: 血淀粉酶、白细胞、中性粒细胞分数恢复正常所需时间及腹痛、腹部压痛缓解时间明显缩短, 差异显著, 有统计学意义(P<0.05), 而血脂肪酶、

表 1 胆源性胰腺炎患者治疗后血淀粉酶、脂肪酶、白细胞、中性粒细胞分数、C-反应蛋白、血糖、血钙恢复时间的比较 (mean ± SD, d)

分组	n	血淀粉酶	血脂肪酶	白细胞	中性粒细胞分数	C-反应蛋白	血糖	血钙
乌司他丁组	21	7.52 ± 2.89	15.32 ± 3.21	9.23 ± 3.56	12.12 ± 2.56	5.23 ± 1.86	12.14 ± 2.56	8.17 ± 1.89
加倍酯组	19	4.83 ± 1.13[a]	14.82 ± 2.95	6.23 ± 2.10[a]	8.01 ± 1.58[a]	5.01 ± 1.24	11.52 ± 2.71	7.45 ± 2.11
乌司他丁联合加倍酯组	25	4.01 ± 2.12[a]	14.79 ± 2.24	6.02 ± 1.22[a]	7.89 ± 1.84[a]	4.89 ± 0.56	11.09 ± 2.01	7.36 ± 1.86

[a]*P*<0.05 *vs* 乌司他丁组.

表 2 胆源性胰腺炎患者治疗后腹痛、上腹部压痛缓解时间比较 (mean ± SD, d)

分组	n	腹痛缓解时间	上腹压痛缓解时间
乌司他丁组	21	6.56 ± 3.25	9.58 ± 3.54
加倍酯组	19	3.72 ± 1.84[a]	5.89 ± 2.51[a]
乌司他丁联合加倍酯组	25	3.56 ± 2.01[a]	5.78 ± 2.45[a]

[a]*P*<0.05 *vs* 乌司他丁组.

表 3 非胆源性胰腺炎患者治疗后血淀粉酶、脂肪酶、白细胞、中性粒细胞分数、C-反应蛋白、血糖、血钙恢复时间比较 (mean ± SD, d)

分组	n	血淀粉酶	血脂肪酶	白细胞	中性粒细胞分数	C-反应蛋白	血糖	血钙
乌司他丁组	15	7.18 ± 2.25[a]	14.56 ± 2.03[a]	8.89 ± 2.35[a]	11.23 ± 2.03[a]	4.18 ± 1.03	11.23 ± 2.75[a]	8.05 ± 1.05
加倍酯组	20	6.96 ± 1.13[a]	12.89 ± 1.66[a]	8.45 ± 2.01[a]	10.89 ± 1.98[a]	4.89 ± 0.76	11.01 ± 2.02[a]	7.89 ± 2.67
乌司他丁联合加倍酯组	24	4.22 ± 1.77	8.23 ± 1.36	4.23 ± 2.56	6.87 ± 0.79	4.56 ± 0.42	7.89 ± 1.24	7.35 ± 1.87

[a]*P*<0.05 *vs* 乌司他丁联合加倍酯组.

表 4 非胆源性胰腺炎患者治疗后腹痛、上腹部压痛缓解时间比较 (mean ± SD, d)

分组	n	腹痛缓解时间	上腹压痛缓解时间
乌司他丁组	15	5.78 ± 2.56[a]	7.25 ± 2.12[a]
加倍酯组	20	5.02 ± 1.81[a]	7.03 ± 1.89[a]
乌司他丁联合加倍酯组	24	3.15 ± 1.23	4.12 ± 0.55

[a]*P*<0.05 *vs* 乌司他丁联合加倍酯组.

血糖、血钙、C-反应蛋白恢复正常所需时间无显著性差异(*P*>0.05). 加倍酯组与乌司他丁联合加倍酯组之间比较各项观察指标无显著性差异.

非胆源性胰腺炎患者乌司他丁组与加倍酯组比较, 各项观察指标无显著性差异. 两组分别与乌司他丁联合加倍酯组比较: 血淀粉酶、脂肪酶、白细胞、中性粒细胞分数、血糖恢复正常所需时间及腹痛、腹部压痛缓解时间组间有显著性差异(*P*<0.05), 而C-反应蛋白、血钙恢复正常所需时间组间无显著性差异(表1-4).

3 讨论

AP是临床常见急腹症, 其发病机制复杂, 主要由胰腺内多种酶活化后导致胰腺组织的自身消化而引起的急性化学性炎症[1]. 随着我国医学的不断进展, 非手术疗法在的治疗上占据主导地位. 包括禁食水、胃肠减压、抑酸、抗炎、胰酶抑制及抗休克等疗法[2,3]. 目前临床常用的抑酶制

■应用要点

胰酶抑制剂是治疗AP的常用药物, 临床应用广泛. 近年来不同种类的胰酶抑制剂涌入市场, 使得临床医生对如何选择用药产生困惑, 本文通过对常用胰酶抑制剂的作用机制及临床疗效进行分析, 旨在帮助临床医生正确、合理的选择用药.

■名词解释

全身炎症反应综合征: 因感染或非感染病因作用于机体而引起的机体失控的自我持续放大和自我破坏的全身性炎症反应, 他是机体修复和生存而出现过度应激反应的一种临床过程. 当机体受到外源性损伤或感染毒性物质的打击时, 可促发初期炎症反应, 同时机体产生的内源性免疫炎性因子而形成“瀑布效应”.

■同行评价
本文是关于两种药物治疗AP的回顾性比较研究, 针对不同诱因采用不同的胰酶抑制剂, 对临床选择药物有一定的参考价值.

剂包括加倍酯和乌司他丁. 本文主要对两种抑酶制剂的作用机制及临床疗效进行分析对比.

加倍酯是一种非肽类蛋白酶抑制剂, 从大豆中提取, 对胰蛋白酶、血管舒缓素、磷脂酶A2、凝血酶、激肽释放酶, 纤维蛋白溶酶等蛋白酶的活性均有强烈的抑制作用. 研究表明, 加倍酯不仅能降低胰管内压, 降低Oddi括约肌收缩频率和幅度[4], 还能抑制腺泡内胰蛋白酶原的活化及炎症级联反应, 对抑制血清淀粉酶、脂肪酶活性及降低尿素氮有明显效果, 由肝脏代谢, 肾脏排泄. 近年来研究发现, 加倍酯对胆源性胰腺炎患者细胞因子及免疫功能有一定影响, 可使肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-alpha, TNF-α)、白介素(interleukin, IL)-10、T抑制细胞(suppressor T cell, Ts)百分比下降, 同时增高总T淋巴细胞、T辅助细胞、单核细胞HLA-DR的表达和单核细胞数目, 进而提高患者单核细胞抗原呈递能力, 改善预后[5]. 本研究分别对胆源性胰腺炎与非胆源性胰腺炎患者应用加倍酯后的作用疗效进行分析对比, 结果发现, 胆源性胰腺炎患者应用加倍酯效果要明显好于乌司他丁, 可能与加倍酯可松弛Oddi括约肌, 降低胰管内压有关. 而对于非胆源性胰腺炎患者, 加倍酯治疗效果无明显优势.

乌司他丁是一种从尿中分离出来的单链多肽糖蛋白, 为广谱的酶抑制剂, 他可竞争性抑制胰蛋白、糜蛋白酶、透明质酸酶及血液中的纤溶酶, 反竞争性抑制弹性蛋白酶和羧肽酶[6]. 具有抑制胰蛋白酶、纤溶酶、透明质酸酶、淀粉酶、弹性蛋白酶等糖类、脂类水解酶的作用. 研究发现, 乌司他丁还可对抗白细胞弹力蛋白酶、稳定溶酶体膜、抑制溶酶体酶的释放及抑制心肌抑制因子产生[7-9]. 近年来研究证实, 乌司他丁能够清除自由基, 抑制炎症介质的产生和释放[10-12], 保护远处器官, 减少全身炎症反应综合征的发生[13], 并下调TNF-α与IL-6两种细胞因子的表达[14,15]. 王淑君等[16]研究发现乌司他丁能显著降低血浆D-二聚体水平, 防止高凝状态, 进而改善患者凝血功能. 主要经肾脏排泄. 本研究对胆源性胰腺炎与非胆源性胰腺炎患者应用乌司他丁后的作用疗效进行比较, 结果发现对于非胆源性胰腺炎患者, 联合应用乌司他丁与加倍酯其作用效果要好于单用两者之一, 可能与抑酶谱广有关. 而对于胆源性胰腺炎, 单用乌司他丁效果不如加倍酯.

总之, AP是临床常见急腹症, 病因包括胆石症、暴饮暴食、脂代谢异常、感染、药物等多种因素. 本文通过对比加倍酯与乌司他丁对于胆源性与非胆源性胰腺炎患者的作用疗效, 进而分析两种抑酶药物的作用机制. 旨在进一步指导临床正确、合理的选择用药, 以取的良好的治疗效果.

4 参考文献

1 贺竞敏. 奥曲肽联合乌司他丁治疗急性胰腺炎疗效观察. 临床合理用药 2011; 4: 44-45
2 罗小平, 黄华容, 廖锦歧, 李胜新, 段进东. 急性重症胰腺炎手术与非手术治疗的对比研究. 中国现代医生 2007; 45: 17-18
3 梁培明, 张玉龙, 刘宇斌, 冼志勇. 急性胆源性胰腺炎的治疗方式探讨. 实用医学杂志 2005; 21: 1842-1843
4 吴叔明, 徐华, 戈之铮, 莫剑忠, 陈胜良, 杨川华. 加贝酯对Oddi括约肌运动的影响. 中华消化病杂志 2004; 24: 464-467
5 王云徽, 吴海鹰, 王锦, 李涛, 刘荣, 钱传云. 加贝酯对胆源性重症胰腺炎免疫功能的影响. 昆明医学院学报 2009; 30: 100-104
6 黄延年, 陈思文, 汤志威, 曾完成. 乌司他丁与奥曲肽联合治疗急性胰腺炎的疗效观察. 中国医院药学杂志 2006; 26: 1391-1393
7 中华医学会外科学会胰腺学组. 急性胰腺炎临床诊断和分级标准. 中华外科杂志 1997; 35: 773-775
8 顾瑞香, 刘学敏. 乌司他丁治疗急性胰腺炎的疗效分析. 临床合理用药杂志 2010; 3: 34-35
9 吴小力, 田德安, 刘南植, 康谊, 张诚. 思他宁治疗急性重症胰腺炎的疗效观察与经济学分析. 胃肠病学 2001; 6: 99-100
10 薛镇平. 乌司他丁治疗急性胰腺炎62例临床观察. 临床医学 2011; 31: 47-48
11 上海乌司他丁临床试验协作组. 国产乌司他丁治疗急性胰腺炎的多中心临床研究. 中华消化杂志 2001; 21: 293-296
12 Koizumi R, Kanai H, Maezawa A, Kanda T, Nojima Y, Naruse T. Therapeutic effects of ulinastatin on experimental crescentic glomerulonephritis in rats. *Nephron* 2000; 84: 347-353 [PMID: 10754412 DOI: 10.1159/000045610]
13 Aosasa S, Ono S, Mochizuki H, Tsujimoto H, Ueno C, Matsumoto A. Mechanism of the inhibitory effect of protease inhibitor on tumor necrosis factor alpha production of monocytes. *Shock* 2001; 15: 101-105 [PMID: 11220636 DOI: 10.1097/00024382-200115020-00004]
14 Kast RE. Ritonavir and disulfiram may be synergistic in lowering active interleukin-18 levels in acute pancreatitis, and thereby hasten recovery. *JOP* 2008; 9: 350-353 [PMID: 18469453]
15 徐毅晖, 陈垦, 崔淑兰, 王晖. 促炎和抗炎因子在急性胰腺炎发病机制中的研究进展. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1912-1918
16 王淑君, 陈由达, 岑光力, 杨建毓. 乌司他丁对重症急性胰腺炎患者血浆D-二聚体的影响. 现代实用医学 2010; 22: 42-43

编辑 田滢 电编 闫晋利

世界华人消化杂志 2013年5月18日; 21(14): 1343-1350
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

吲哚美辛预防ERCP术后胰腺炎的Meta分析

姜 丹, 赖铭裕, 陈家庄, 韦春回

姜丹, 赖铭裕, 陈家庄, 韦春回, 广西医科大学第一附属医院老年消化内科 广西壮族自治区南宁市 530021
姜丹, 在读硕士, 主要从事药物预防ERCP术后胰腺炎及胃癌发病机制等方面的研究.
作者贡献分布: 此课题有姜丹与赖铭裕设计; 文献检索由姜丹与韦春回完成; 数据采集由姜丹与韦春回完成; 数据分析由姜丹与陈家庄完成; 论文写作由姜丹与赖铭裕完成.
通讯作者: 赖铭裕, 教授, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路6号, 广西医科大学第一附属医院老年消化内科.
laimingyu2005103@yahoo.com.cn
收稿日期: 2013-03-01 修回日期: 2013-04-15
接受日期: 2013-04-18 在线出版日期: 2013-05-18

Indomethacin for preventing post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis: A meta-analysis

Dan Jiang, Ming-Yu Lai, Jia-Zhuang Chen, Chun-Hui Wei

Dan Jiang, Ming-Yu Lai, Jia-Zhuang Chen, Chun-Hui Wei, Department of Geriatric Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Correspondence to: Ming-Yu Lai, Professor, Department of Geriatric Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. laimingyu2005103@yahoo. com.cn
Received: 2013-03-01 Revised: 2013-04-15
Accepted: 2013-04-18 Published online: 2013-05-18

Abstract

AIM: To assess the effectiveness and safety of indomethacin in preventing post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis (PEP).

METHODS: Electronic searches were conducted to retrieve randomized controlled trials (RCTs) comparing indomethacin to placebo in the prevention of PEP from the PubMed, Embase, CBM, CNKI, WANFANG and VIP databases. Data collection and literature evaluation were performed by two reviewers independently. Review Manager 5.0 was used for statistical analysis.

RESULTS: A total of 11 RCTs involving 2718 patients were included. The meta-analysis showed that indomethacin could reduce the incidence of PEP (OR = 0.39, 95%CI: 0.30-0.52, $P < 0.00001$) and hyperamylasemia (OR = 0.50, 95%CI: 0.37-0.67, $P < 0.00001$).

CONCLUSION: Indomethacin is safe and effective in reducing the incidence of PEP and hyperamylasemia.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis; Hyperamylasemia; Indomethacin; Meta-analysis

Jiang D, Lai MY, Chen JZ, Wei CH. Indomethacin for preventing post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis: A meta-analysis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(14): 1343-1350 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1343.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i14.1343

摘要

目的: 评价非甾体类抗炎药吲哚美辛预防经内镜逆行胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangio-pancreatography, ERCP)后胰腺炎(post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis, PEP)的有效性.

方法: 计算机检索PubMed、Embase、中国生物医学文献数据库、清华同方数据库、万方数据库、维普数据库, 全面收集吲哚美辛预防ERCP术后胰腺炎的随机对照试验, 由两人独立进行数据提取和文献评价. 应用Review Manager 5.0进行统计分析.

结果: 共纳入11项随机对照试验(randomized controlled trials, RCTs), 共计2718例行ERCP患者. Meta分析结果显示: 应用吲哚美辛可降低PEP的发生率(OR = 0.39, 95%CI: 0.30-0.52, $P<0.00001$)及高淀粉酶血症的发生率(OR = 0.50, 95%CI: 0.37-0.67, $P<0.00001$). 11个纳入研究均未报告药物相关不良反应.

结论: 吲哚美辛可以有效降低ERCP术后胰腺炎及术后高淀粉酶血症的发生率.

© 2013年版权归Baishideng所有.

■背景资料
目前经内镜逆行胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangio-pancreatography, ERCP)术后胰腺炎(post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis, PEP)的发生仍为ERCP术后最常见的严重并发症之一, 其发生与磷脂酶A2(phospholipase A2, PLA2)及环氧酶有关. 吲哚美辛是一种具有抑制PLA2及环氧酶作用的非甾体类抗炎药非甾体类抗炎药(nonsteroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs), 有可能降低PEP及术后高淀粉酶血症的发生率.

■同行评议者
郭晓钟,教授, 中国人民解放军沈阳军区总医院消化内科

■研发前沿
PLA2、环氧酶、中性粒细胞及内皮细胞相互作用在胰腺炎的发生机制中被认为起到重要的作用. NSAIDs是强效PLA2及环氧酶抑制剂, 其中吲哚美辛在多项临床对照试验中显示可降低PEP及术后高淀粉酶血症的发生率.

关键词: 经内镜逆行胰胆管造影术后胰腺炎; 高淀粉酶血症; 吲哚美辛; Meta分析

核心提示: 内镜逆行胰胆管造影术经内镜逆行胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangio-pancreatography, ERCP)后胰腺炎(post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis, PEP)是ERCP术后最常见且严重的并发症, 其发生可能与磷脂酶A2(phospholipase A2)及环氧酶有关. 本研究采用Meta分析的方法对非甾体类抗炎药(nonsteroidal antiinflammatory drugs)吲哚美辛预防PEP的有效性进行评价, 结果表明该药物可以降低ERCP术后胰腺炎及术后高淀粉酶血症的发生率.

姜丹, 赖铭裕, 陈家庄, 韦春回. 吲哚美辛预防ERCP术后胰腺炎的Meta分析. 世界华人消化杂志 2013; 21(14): 1343-1350
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1343.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i14.1343

0 引言

经内镜逆行胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangio-pancreatography, ERCP)自20世纪60年代开始应用于临床以来, 已成为胆胰系统疾病的常规诊疗术式. 随着技术条件的日益成熟, ERCP的术后并发症有所下降, 但ERCP术后胰腺炎(post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis, PEP)仍为ERCP术后最常见的严重并发症之一. 有研究表明, 急性胰腺炎的发生与磷脂酶A2(phospholipase A2, PLA2)及环氧酶有关, 而非甾体类抗炎药(nonsteroidal antiinflammatory drugs, NSAIDs)作为有效的PLA2及环氧酶抑制剂, 有可能降低PEP及术后高淀粉酶血症的发生率. 本研究采用Cochrane系统评价中Meta分析的方法, 对非甾体类抗炎药吲哚美辛(indomethacin)预防PEP的有效性进行评价, 以期为临床合理用药提供证据.

1 材料和方法

1.1 材料 计算机检索PubMed、Embase、中国生物医学文献数据库、清华同方数据库、万方数据库及维普数据库. 检索时限均为建库至2012-11. 英文检索词包括“ERCP*”, “Endoscopic Retrograde Cholangiopancreatography*”, “Pancreatitis*”, “PEP*”, “Post-ERCP Pancreatitis*”, “Post-Endoscopic Retrograde Cholangiopancreatography*”, “NSAIDs”, “nonsteroidal anti-inflammatory drugs”, “anti-inflammatory agents, non-steroidal”, “indomethacin”, “Prophylaxis”及“Prevention”. 中文检索词包括: “经内镜逆行胰胆管造影术”、“ERCP术后胰腺炎”、“胰腺炎”、“非甾体类抗炎药”、“吲哚美辛”及“消炎痛”.

1.2 方法

1.2.1 材料纳入与排除标准: (1)研究类型: 吲哚美辛预防ERCP术后胰腺炎与安慰剂/空白对照比较的随机对照试验; 公开杂志发表, 无论是否采用盲法及分配隐藏, 不限语种; (2)研究对象: 拟行ERCP术的患者, 排除胰腺炎急性发作、怀孕或哺乳、急性细菌感染的患者, 其性别、年龄、人种及国籍等不限; (3)干预措施: 试验组采用吲哚美辛(indomethacin), 对照组采用安慰剂或空白对照; (4)疗效判定指标: 采用下列一项或多项疗效判定指标的原始研究文献均被纳入: PEP发病率、重度PEP发病率、PEP患者病死率及药物不良反应发生率. 参照Cotton等[1]制定的关于ERCP术后并发症的建议和形成的共识将PEP定义为ERCP后出现腹痛或者腹痛加重持续时间超过24 h, 造成门诊患者住院超过一晚或延迟住院患者的住院时间, 并且血清淀粉酶水平在ERCP后18 h内增加至少超过正常值上限的3倍; (5)排除标准: 研究中出现下列情况之一者均予以排除: 采用除吲哚美辛外其他预防PEP的措施; 研究中仅限于药物防治ERCP术后高淀粉酶血症的试验; 试验尚未完成或仅有初步结果者; 试验报告无法获取全文者.

1.2.2 偏倚风险评估: 由两名评价员共同按照Cochrane系统评价员手册(5.1.0版)中随机对照试验(randomized controlled trials, RCTs)的偏倚风险评价标准对所纳入研究进行方法学质量评价, 若分歧则通过讨论或征求第三方意见解决. 评价内容包括: (1)随机分配的产生; (2)隐藏分组; (3)对患者和医生实施盲法; (4)对结果评价实施盲法; (5)结果数据的完整性; (6)选择性的结果报告; (7)其他偏倚. 针对上述7条评价内容, 回答“是”表示“低偏倚风险”; “否”表示“高偏倚风险”“不清楚”则表示“缺乏相关信息或偏倚情况不确定”.

1.2.3 资料提取: 由两名评价员独立提取纳入研究资料, 交叉核对后, 通过讨论或征求第三方意见处理不一致结果. 资料提取内容包括: 方法学质量、干预方案、疗程判效指标及结果. 缺乏的资料试通过电话或邮件与作者联系进行补充. 在涉及含有多组研究的RCT时, 提取与本研究相

表 1 纳入11个随机对照试验基本特征表

文献作者	发表时间	研究n	干预组 n	干预组 干预措施(吲哚美辛100mg)	干预组 平均年龄(岁)	对照组 n	对照组 干预措施(给药时间同前)	对照组 平均年龄(岁)	随机分配方式是否提及	盲法实施
Montaño Loza等[2]	2006	117	61	术前2 h	54.2±18.8	56	甘油	50.1±18.1	否	单盲
Montaño Loza等[3]	2007	150	75	术前2 h	55.37±18.0	75	甘油	51.1±17.0	否	单盲
Sotoudehmanesh等[4]	2007	442	221	术前	58.4±17.1	221	安慰剂	58.1±16.8	否	单盲
夏挺松等[5]	2010	60	30	术前0.5 h	68.7	30	空白对照	68.7	否	未提及
钱建清等[6]	2011	348	182	术前0.5 h	50.1±7.1	166	安慰剂	51.9±6.4	否	未提及
徐俊荣等[7]	2011	168	83	术前0.5 h	60.354±1.275	85	安慰剂	60.354±1.275	否	未提及
Döbrönte等[8]	2012	228	130	术前0 min	66.8±16.4	98	安慰剂	66.8±16.4	否	未提及
Elmunzer等[9]	2012	602	295	术后立即	44.4±13.5	307	安慰剂	46.0±13.1	是	双盲
薛冬云等[10]	2012	90	48	术后立即	67.2	42	安慰剂	69	是	未提及
孙骞等[11]	2012	113	60	术前1 h	59	53	空白对照	59	是	未提及
林涛等[12]	2012	400	200	术前0.5 h	63	200	空白对照	63	是	未提及

关的试验组与对照组.

统计学处理 采用Cochrane协作网所提供的RevMan5.0软件进行统计分析. Meta分析之前, 先进行异质性检验. 若P>0.1, I^2<50%, 表明异质性不明显, 选用固定效应模型估计合并效应量; 若P<0.1, I^2>50%, 表明异质性明显, 可采用随机效应模型估计合并效应量, 若异质性过于明显, 则需进一步分析异质性原因和来源, 必要时进行亚组分析、敏感性分析, 乃至最终放弃Meta分析. 计数资料的效应量表达采用OR及其95%CI, P<0.05表示有统计学意义. 若纳入研究数在11篇及以上, 则绘制漏斗图, 用以分析发表偏倚.

2 结果

2.1 文献检索结果 检索数据库获得相关文献112篇, 剔除重复后获得文献84篇. 阅读文题及摘要后, 因题目或摘要不符合要求及非随机对照实验进行初筛剩余文献12篇. 在阅读全文后, 按照纳入标准, 排除不符合纳入标准的文献1篇. 最终纳入11个RCT, 共2718例行ERCP术患者.

2.2 纳入研究的基本特征 纳入的11个RCT[2-12]均以全文形式发表. 研究对象在年龄、性别、ERCP术前病史因素等方面基线一致. 2718例拟行ERCP术的患者中, 试验组1385例, 采用吲哚美辛直肠给药; 对照组1333例, 给予安慰剂或空白对照. 所有纳入试验均设置了明确的纳入标准, 其中7个试验设置了排除标准, 有4个RCT[3,5,6,11]未描述排除标准. 其中有4篇[9-12]文献写明随机化分配方案, 另外7篇则未提及. 有3个RCT[2-4]采用单盲, 1个RCT[9]采用双盲, 其余未提及盲法(表1).

2.3 纳入研究的偏倚风险评价 11个RCT纳入的病例均基线可比. 其中4篇文献[9-12]对随机分配方案的产生描述完整, 其他9篇只提到随机化分配而未进行具体描述. 所以文献均未对分配隐藏进行完整描述. 仅有1个RCT[9]研究过程中实施双盲, 另外有3个RCT[2-4]在研究过程中实施单盲. 有1个RCT[5]存在退出病例, 并详细描述了退出原因. 因未获得11个RCT的计划书, 故无法判断其是否存在选择性报告结果. 所有纳入研究的其他偏倚情况不清楚(图1, 2).

2.4 吲哚美辛的预防效果

2.4.1 对PEP发病率的影响: 纳入11个RCT研究, 对照组均为空白对照或安慰剂. 对11个RCT进行Meta分析的结果提示, 11个试验间不存在明显的异质性(P = 0.72, I^2 = 0%). 采用固定效应模型合并后结果显示, 试验组PEP发病率为5.487%, 对照组发病率为12.68%, 两组间发病率差异有统计学意义(OR = 0.39, 95%CI: 0.30-0.52, P<0.00001)(图3).

2.4.2 对高淀粉酶血症发生率的影响: 有6个试验[2,3,6,7,8,11]报告了吲哚美辛对高淀粉酶血症发生率影响的结果, 共包括580例试验者和522例对照者. 将Montaño Loza等[3]的试验进行亚组间异质性检验, 采用固定效应模型合并后结果显示, 干预组高淀粉酶血症发生率为17.07%, 对照组发生率为28.16%, 两组间发病率差异有统计学意义(OR = 0.50, 95%CI: 0.37-0.67, P<0.00001)(图4).

2.5 发表偏倚分析 采用Review Manager进行发

■相关报道
欧洲胃肠内镜协会在ERCP术后胰腺炎的预防指南中指出: 使用NSAIDs双氯芬酸或吲哚美辛100 mg已被证明可以有效预防并降低PEP的发病率(证据水平1++), 并建议ERCP术前或术后常规直肠给药双氯芬酸或吲哚美辛100 mg(建议A级).

■创新盘点

本文采用Meta分析的方法对非甾体类抗炎药吲哚美辛预防经内镜逆行胰胆管造影PEP的有效性进行评价, 共纳入11个随机对照试验研究, 涉及2718例病例, 针对该药物预防PEP的效果进行统计学分析, 并对术后高淀粉酶血症的发生率进行亚组分析.

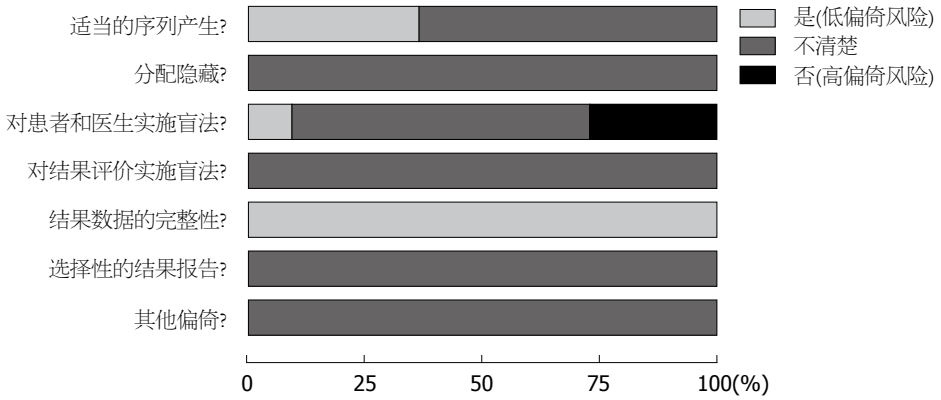


图 1 偏倚风险百分图. 对所有纳入研究产生偏倚风险的项目所占百分比的判断.

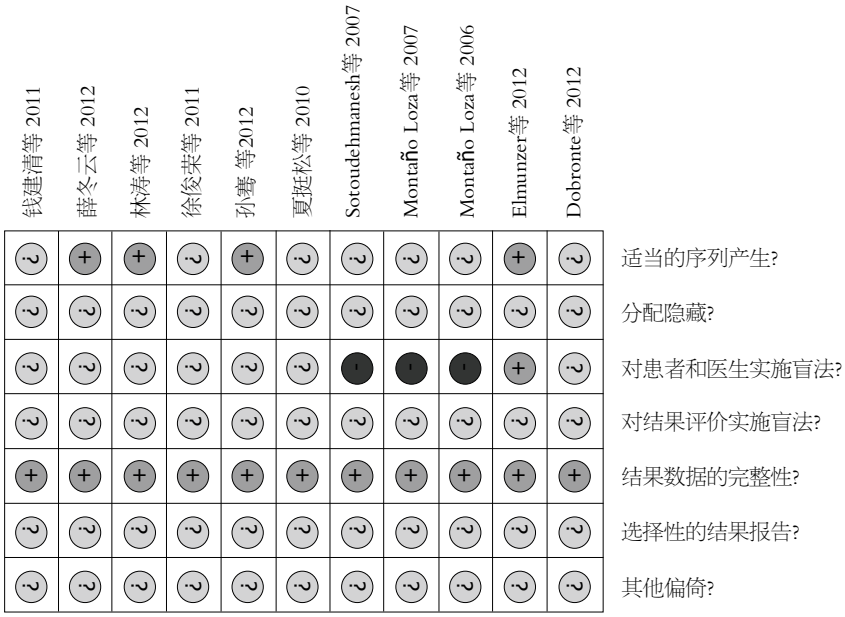


图 2 偏倚风险总结图.

表偏倚漏斗图绘制, 漏斗图基本对称, 无明显发表偏倚(图5).

3 讨论

ERCP是肝胆胰疾病的重要诊治手段之一, 因其创伤小、恢复快及不良反应少而广泛应用于临床实践. 急性胰腺炎是其最常见的并发症, ERCP术后PEP的发生率为1%-10%[1,13-16], 在某些高风险的患者中其发病率可超过25%, 术后无症状性高淀粉酶血症发生率可达70%以上[17]. 在一项涉及16885例接受ERCP诊断和治疗, 归纳其并发症的研究中, PEP也被发现是发生最频繁的, 发生率约3.47%. 其中轻度占45%, 中度为44%, 重度约11%, 死亡率为3%[18]. PEP作为ERCP术后最常见且严重的并发症, 如何预防其发生一直是困扰临床医生的一个难题.

导致ERCP术后胰腺炎的原因很多, 包括操作直接引起或热电传导引起乳头和胰管损伤, 从导致胰液排除受限, 以及注射造影剂等损伤胰腺组织, 引起蛋白水解酶的过早激活, 发生胰腺自身消化和受损[19]. 虽然PEP的发病机制尚未明确, 但细胞因子所介导的炎症级联反应发挥了重要的作用, 并由此产生了炎症放大效应导致全身炎症反应综合征和器官功能障碍综合征的发生以及促抗炎因子的失衡导致代偿性抗炎反应综合征, 二次打击的出现[20]. ERCP术后胰腺炎预防的目的, 是中断这种级联反应点之一.

在ERCP术后胰腺炎损伤的机制中, PLA2、环氧酶、中性粒细胞及内皮细胞相互作用在胰腺炎的发生机制中被认为起到重要的作用. 早在1989年Funakoshi等[21]研究经内镜逆行胰腺造影后立即测血清PLA2水平升高显著, 并在24 h后恢复到基础水平, 结果表明阶段测量血清PLA2有助于胰腺炎的诊断和监测. 且有研究

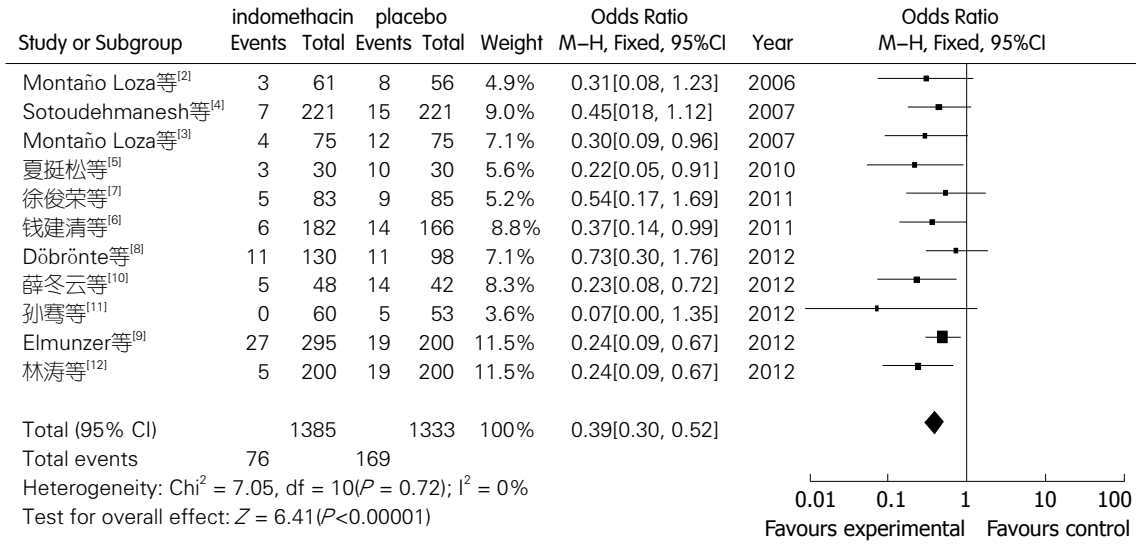


图 3 两组内镜逆行胰胆管造影术后胰腺炎发生率比较的Meta分析.

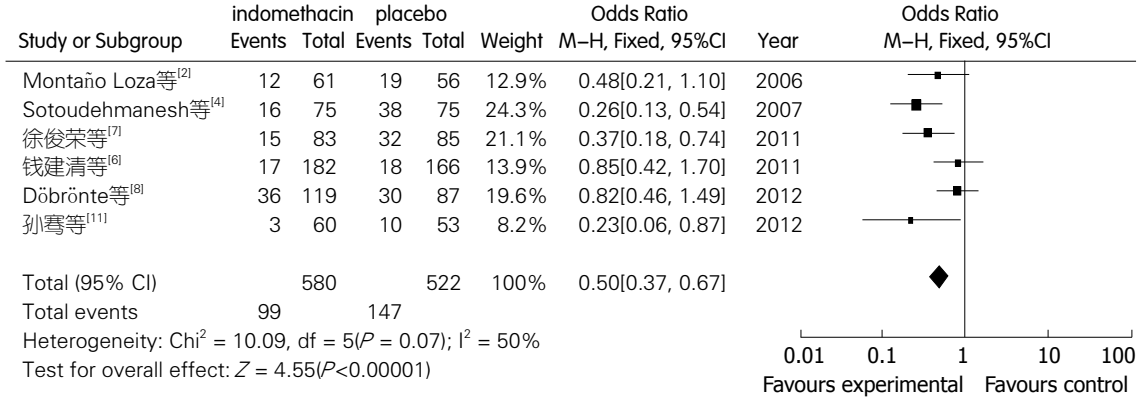


图 4 两组高淀粉酶血症发生率比较的Meta分析.

表明PEP的发生发展还与PLA2的过早激活和过度释放有关[22]. PLA2是一种重要的中心炎症因子, 广泛分布于细胞质膜、细胞器膜, 活化的PLA2催化、水解细胞膜的甘油磷脂产生一系列的炎症介质(如肿瘤坏死因子、白介素、白三烯等)[23]. 这些炎症介质直接或间接引起并加剧了胰腺的损伤, PLA2可以直接分解细胞膜磷脂, 破坏膜结构, 增加细胞膜的通透性, 直接破坏细胞. PLA2引起大量炎症介质的释放, 这些炎症介质又通过“扳机样作用”触发下游炎症介质的“瀑布样级联反应”, 并能通过自分泌和旁分泌等调节作用而起到级联放大作用, 从而进一步增加炎症介质的生物合成, 使胰腺组织损伤进一步加重. 此外PLA2还通过产生氧自由基、抑制氧化应激诱导的细胞凋亡等途径加重胰腺组织的坏死, 使胰腺炎趋向于重症化[24].

很多非甾体类抗炎药(nonsteroidal antiinflammatory drugs, NSAIDs), 包括吲哚美辛, 是强效PLA2及环氧酶抑制剂, 能阻止嗜中性粒细胞到达组织, 从而阻断这一炎症反应的关键步骤[25]. Mäkelä等[26]研究发现NSAIDs能有效抑制重症胰腺炎患者血清的PLA2的活性及中性粒细胞/内皮细胞的附着, 减少中性粒细胞在损伤组织的积聚. 也有研究显示NSAIDs可抑制伴随中性粒细胞活化的一系列现象, 包括环磷酸腺苷的合成、过氧化物阴离子的产生、溶酶体酶的释放等, 从而减轻炎症反应[27].

近年来关于NSAIDs预防PEP的有效性逐渐被人重视. Elmunzer等[25]针对直肠给予NSAIDs预防PEP做了荟萃分析, 共搜集截止到2008年的4个随机对照试验, 共包括912例患者, 该研究表明NSAIDs可以有效预防PEP的发生相对危险(relative risk, RR)为0.36, 95%CI: 0.22-0.60, 无药物不良事件报告. 与此同时, 我国学者Zheng等[28]则将以上ERCP病例按其手术操作难度分为高危和低危人群, 按照Cotton标准将PEP分为

■应用要点

吲哚美辛经直肠给药具有起效快、生物利用度高、胃肠道不良反应少、经济低廉等优点, 有望达到减少PEP的发生率、提高ERCP的诊疗水平及安全性、缩短患者的住院时间、减轻患者的精神心理和经济负担及减少医疗资源的耗费等预期目的.

■名词解释
磷脂酶A2: 一种能催化磷脂甘油分子上二位酰基的水解酶, 亦是花生四烯酸、前列腺素及血小板活化因子等生物活性物质生成的限速酶, 所产生的脂质介质在炎症和组织损伤时膜通道的活化、信息传递、血流动力学及病理生理过程中, 以及在调节细胞内外代谢中起关键性作用.

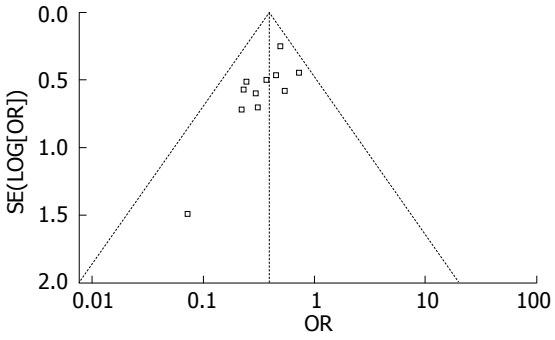


图 5 吲哚美辛预防ERCP术后胰腺炎的文献发表偏倚分析漏斗图.

轻、中、重度, 进行分层统计分析后提示: 直肠给予NSAIDs可显著降低轻度PEP的发生(RR = 0.40), 可降低中度及重度PEP的发生(RR = 0.13), 无药物不良反应及死亡病例, 提示直肠给予NSAIDs是安全有效的. 2010年欧洲胃肠内镜协会在ERCP术后胰腺炎的预防指南中指出: 使用NSAIDs双氯芬酸或吲哚美辛100 mg已被证明可以有效预防并降低PEP的发病率(证据水平1++), 并建议ERCP术前或术后常规直肠给药双氯芬酸或吲哚美辛100 mg(建议A级)[29]. 然而2012年我国赖薇等[30]针对双氯芬酸预防PEP疗效与安全性的系统评价显示: 应用双氯芬酸可降低PEP发病率(OR = 0.41, 95%CI: 0.18-0.95, P = 0.04), OR值在界值附近, 敏感性分析提示结果稳定性较差; 双氯芬酸不能显著降低重度PEP发病率(OR = 0.40, 95%CI: 0.08-2.06, P = 0.27).

另外, 目前相关研究比较多且临床上较常用于预防PEP的药物还有生长抑素及其长效类似物奥曲肽. 国外最近一项纳入了17个RCT包含3818名参与者的Meta分析[31]提示: 生长抑素和高剂量奥曲肽有可能预防ERCP术后胰腺炎, 生长抑素在行胰管内注射、胆道括约肌切开术的患者中及高剂量维持超过12 h或单剂注射的使用方法中可获得显著的预防效果. 国内的汤学文等[32]对奥曲肽预防PEP的疗效进行系统评价, 其中纳入17个RCT共5092例患者, 得出的结论为奥曲肽能降低PEP(P<0.00001, OR = 0.47, 95%CI: 0.35-0.63)和ERCP术后高淀粉酶血症(P = 0.0001, OR = 0.58, 95%CI: 0.44-0.77)的发病率, 但不能降低SPEP和ERCP术后腹痛的发病率. 在蛋白酶抑制剂的相关研究中表明加贝酯和乌司他丁对降低PEP的发生率及减少ERCP术后高淀粉酶血症的发生可能有效, 但疗效不显著, 且只有在足够的剂量时才能有效[33,34]. 通过上述研究, 虽然该类药物在可以起到预防PEP的作用, 但其价格昂贵, 意味着需要更多的医疗资源和费用. 而硝酸甘油、糖皮质激素等对PEP的预防作用不甚理想, 不推荐临床应用[35-37]. 目前多数研究对低分子肝素、乙酰半胱氨酸、硝苯地平、β-胡萝卜素等的预防PEP作用持否定观点, 而中药适时干预的效果也尚需进一步研究.

本研究采用Meta分析的方法对非甾体类抗炎药吲哚美辛预防PEP的有效性进行评价. 严格按照纳入及排除标准, 共纳入11个RCT研究, 各样本量从60例到602例, 共纳入2718例. 入选研究对象在年龄、性别等方面基线平行良好. 对11篇有关吲哚美辛预防PEP的文献数据进行分析. 其中, 吲哚美辛对PEP发生率的合并分析结果为(OR = 0.39, 95%CI: 0.30-0.52, P<0.00001), 表明干预组的PEP发生率低于对照组, 且差异有统计学意义, 吲哚美辛对高淀粉酶血症发生率的合并分析结果为(OR = 0.50, 95%CI: 0.37-0.67, P<0.00001), 表明干预组的高淀粉酶血症发生率低于对照组, 且差异有统计学意义. 通过本研究可进一步表明吲哚美辛作为一种NSAIDs可以降低ERCP术后胰腺炎及术后高淀粉酶血症的发生率. 此外, 经直肠给药的药物浓度于30-90 min达峰浓度, 其生物利用度为100%, 而经口途径药物达峰值约2 h, 生物利用度仅为直肠给药的50%-60%[38], 且投入-效益比明显(美国平均治疗每个PEP病例需多花费5700美元, 而预防性使用消炎痛仅需2美元)[25]. 为此, 拟行ERCP的患者术前常规禁饮禁食, 而直肠给药具有起效快、减少NSAIDs对胃肠道的不良反应、经济低廉等优点, 选择该药物对PEP进行预防, 有望达到减少PEP的发生率、提高ERCP的诊疗水平及安全性、缩短患者的住院时间、减轻患者的精神心理和经济负担及减少医疗资源的耗费等预期目的.

4 参考文献

1 Cotton PB, Lehman G, Vennes J, Geenen JE, Russell RC, Meyers WC, Liguory C, Nickl N. Endoscopic sphincterotomy complications and their management: an attempt at consensus. *Gastrointest Endosc* 1991; 37: 383-393 [PMID: 2070995]
2 Montaño Loza A, García Correa J, González Ojeda A, Fuentes Orozco C, Dávalos Cobián C, Rodríguez Lomelí X. [Prevention of hyperamilasemia and pancreatitis after endoscopic retrograde cholangiopancreatography with rectal administration of indomethacin]. *Rev Gastroenterol Mex* 2006; 71: 262-268 [PMID: 17140047]
3 Montaño Loza A, Rodríguez Lomelí X, García Correa JE, Dávalos Cobián C, Cervantes Guevara G, Medrano Muñoz F, Fuentes Orozco C, González Ojeda A. [Effect of the administration of rectal indo-

methacin on amylase serum levels after endoscopic retrograde cholangiopancreatography, and its impact on the development of secondary pancreatitis episodes]. *Rev Esp Enferm Dig* 2007; 99: 330-336 [PMID: 17883296]
4 Sotoudehmanesh R, Khatibian M, Kolahdoozan S, Ainechi S, Malboosbaf R, Nouraie M. Indomethacin may reduce the incidence and severity of acute pancreatitis after ERCP. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 978-983 [PMID: 17355281 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2007.01165.x]
5 夏挺松, 刘鹏飞. 直肠非甾体类抗炎药对ERCP术后胰腺炎的预防作用. 中华消化内镜杂志 2010; 27: 301-302
6 钱建清, 戴建军, 王卫军, 徐晓丹. 吲哚美辛对内镜下逆行性胰胆管造影术后胰腺炎的预防. 中华胰腺病杂志 2011; 11: 326-328
7 徐俊荣, 楚有良, 韩坤, 宋瑛, 张宁霞, 方雅丽. 吲哚美辛在预防ERCP术后胰腺炎中作用的研究. 胃肠病学和肝病学杂志 2011; 20: 858-860
8 Döbrönte Z, Toldy E, Márk L, Sarang K, Lakner L. [Effects of rectal indomethacin in the prevention of post-ERCP acute pancreatitis]. *Orv Hetil* 2012; 153: 990-996 [PMID: 22714033 DOI: 10.1556/OH.2012.29403]
9 Elmunzer BJ, Scheiman JM, Lehman GA, Chak A, Mosler P, Higgins PD, Hayward RA, Romagnuolo J, Elta GH, Sherman S, Waljee AK, Repaka A, Atkinson MR, Cote GA, Kwon RS, McHenry L, Piraka CR, Wamsteker EJ, Watkins JL, Korsnes SJ, Schmidt SE, Turner SM, Nicholson S, Fogel EL. A randomized trial of rectal indomethacin to prevent post-ERCP pancreatitis. *N Engl J Med* 2012; 366: 1414-1422 [PMID: 22494121 DOI: 10.1056/NEJMoa1111103]
10 薛冬云, 赵治香, 曲少贤. 非甾体类抗炎药对内镜下逆行性胰胆管造影术后急性胰腺炎的预防作用. 中国中西医结合消化杂志 2012; 20: 347-348
11 孙骞, 赵清喜, 毛涛, 鞠辉, 孔心涓, 田宇彬. 消炎痛栓预防胆总管结石ERCP术后胰腺炎的效果. 齐鲁医学杂志 2012; 27: 355-357
12 林涛, 周毅, 王均, 姚茹, 姜莉, 方如塘, 王苏丽, 谢艳. 吲哚美辛预防经内镜逆行胰胆管造影术后胰腺炎和高淀粉酶血症的临床研究. 中华消化内镜杂志 2012; 29: 185-187
13 Freeman ML, DiSario JA, Nelson DB, Fennerty MB, Lee JG, Bjorkman DJ, Overby CS, Aas J, Ryan ME, Bochna GS, Shaw MJ, Snady HW, Erickson RV, Moore JP, Roel JP. Risk factors for post-ERCP pancreatitis: a prospective, multicenter study. *Gastrointest Endosc* 2001; 54: 425-434 [PMID: 11577302]
14 Frank CD, Adler DG. Post-ERCP pancreatitis and its prevention. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2006; 3: 680-688 [PMID: 17130878 DOI: 10.1038/ncpgasthep0654]
15 Cooper ST, Slivka A. Incidence, risk factors, and prevention of post-ERCP pancreatitis. *Gastroenterol Clin North Am* 2007; 36: 259-276, vii-viii [PMID: 17533078 DOI: 10.1016/j.gtc.2007.03.006]
16 Cheng CL, Sherman S, Watkins JL, Barnett J, Freeman M, Geenen J, Ryan M, Parker H, Frakes JT, Fogel EL, Silverman WB, Dua KS, Aliperti G, Yakshe P, Uzer M, Jones W, Goff J, Lazzell-Pannell L, Rashdan A, Temkit M, Lehman GA. Risk factors for post-ERCP pancreatitis: a prospective multicenter study. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 139-147 [PMID: 16405547 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2006.00380.x]
17 Gottlieb K, Sherman S. ERCP and biliary endoscopic sphincterotomy-induced pancreatitis. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 1998; 8: 87-114 [PMID: 9405753]
18 Andriulli A, Loperfido S, Napolitano G, Niro G, Valvano MR, Spirito F, Pilotto A, Forlano R. Incidence rates of post-ERCP complications: a systematic survey of prospective studies. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 1781-1788 [PMID: 17509029 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2007.01279.x]
19 Donnellan F, Byrne MF. Prevention of Post-ERCP Pancreatitis. *Gastroenterol Res Pract* 2012; 2012: 796751 [PMID: 21845187]
20 李荣, 韩真. 细胞因子与内镜逆行胰胆管造影术后胰腺炎关系的研究进展. 世界华人消化杂志 2011; 19: 2146-2152
21 Funakoshi A, Furukawa M, Yamada Y, Wakasugi H, Abe M, Oogami Y, Shinozaki H. [Clinical studies of serum phospholipase A2 immunoreactivity]. *Nihon Shokakibyo Gakkai Zasshi* 1989; 86: 1136-1140 [PMID: 2795950]
22 Yamamoto K, Shinomura Y, Tojo H, Okamoto M, Tarui S. Serum pancreatic phospholipase A2 and prophospholipase A2 in acute pancreatitis and after endoscopic retrograde pancreatography. *Gastroenterol Jpn* 1993; 28: 679-686 [PMID: 8224619]
23 Kudo I, Murakami M. Phospholipase A2 enzymes. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2002; 68-69: 3-58 [PMID: 12432908]
24 Seleznev K, Zhao C, Zhang XH, Song K, Ma ZA. Calcium-independent phospholipase A2 localizes in and protects mitochondria during apoptotic induction by staurosporine. *J Biol Chem* 2006; 281: 22275-22288 [PMID: 16728389 DOI: 10.1074/jbc.M604330200]
25 Elmunzer BJ, Waljee AK, Elta GH, Taylor JR, Fehmi SM, Higgins PD. A meta-analysis of rectal NSAIDs in the prevention of post-ERCP pancreatitis. *Gut* 2008; 57: 1262-1267 [PMID: 18375470 DOI: 10.1136/gut.2007.140756]
26 Mäkelä A, Kuusi T, Schröder T. Inhibition of serum phospholipase-A2 in acute pancreatitis by pharmacological agents in vitro. *Scand J Clin Lab Invest* 1997; 57: 401-407 [PMID: 9279965 DOI: 10.3109/00365519709084587]
27 Slater D, Kunnathil S, McBride J, Koppala R. Pharmacology of nonsteroidal antiinflammatory drugs and opioids. *Semin Intervent Radiol* 2010; 27: 400-411 [PMID: 22550382 DOI: 10.1055/s-0030-1267855]
28 Zheng MH, Xia HH, Chen YP. Rectal administration of NSAIDs in the prevention of post-ERCP pancreatitis: a complementary meta-analysis. *Gut* 2008; 57: 1632-1633 [PMID: 18941015]
29 Dumonceau JM, Andriulli A, Deviere J, Mariani A, Rigaux J, Baron TH, Testoni PA. European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Guideline: prophylaxis of post-ERCP pancreatitis. *Endoscopy* 2010; 42: 503-515 [PMID: 20506068 DOI: 10.1055/s-0029-1244208]
30 赖薇, 王烜, 邓明明, 康德英, 贾红. 双氯芬酸预防经内镜逆行胰胆管造影术后胰腺炎疗效与安全性的系统评价. 中国循证医学杂志 2012; 12: 470-476
31 Omata F, Deshpande G, Tokuda Y, Takahashi O, Ohde S, Carr-Locke DL, Jacobs JL, Mine T, Fukui T. Meta-analysis: somatostatin or its long-acting analogue, octreotide, for prophylaxis against post-ERCP pancreatitis. *J Gastroenterol* 2010; 45: 885-895 [PMID: 20373114 DOI: 10.1007/s00535-010-0234-4]

■同行评价
本文采取Meta分析的方法对吲哚美辛的预防作用给出了肯定的结论, 是一种简单、经济、给药途径方便的预防方法, 值得在临床上推广应用.

32 汤学文, 孙勇, 贾红. 奥曲肽预防内镜下逆行胰胆管造影术后胰腺炎疗效的系统评价. 国际消化病杂志 2011; 31: 302-306
33 张俊, 李非. 加贝酯预防ERCP术后胰腺炎的Meta分析. 中国普外基础与临床杂志 2012; 19: 48-57
34 Zhang ZF, Yang N, Zhao G, Zhu L, Zhu Y, Wang LX. Preventive effect of ulinastatin and gabexate mesylate on post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis. *Chin Med J* (Engl) 2010; 123: 2600-2606 [PMID: 21034635]
35 Chen B, Fan T, Wang CH. A meta-analysis for the effect of prophylactic GTN on the incidence of post-ERCP pancreatitis and on the successful rate of cannulation of bile ducts. *BMC Gastroenterol* 2010; 10: 85 [PMID: 20673365 DOI: 10.1186/1471-230X-10-85]
36 Shao LM, Chen QY, Chen MY, Cai JT. Nitroglycerin in the prevention of post-ERCP pancreatitis: a meta-analysis. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 1-7 [PMID: 19160042 DOI: 10.1007/s10620-008-0709-9]
37 Bai Y, Gao J, Shi X, Zou D, Li Z. Prophylactic corticosteroids do not prevent post-ERCP pancreatitis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Pancreatology* 2008; 8: 504-509 [PMID: 18765955 DOI: 10.1159/000151999]
38 Dai HF, Wang XW, Zhao K. Role of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in the prevention of post-ERCP pancreatitis: a meta-analysis. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2009; 8: 11-16 [PMID: 19208508]

编辑 田滢 电编 闫晋利

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

• 消息 •

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

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

世界华人消化杂志 2013年5月18日; 21(14): 1351-1354
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

血吸虫肠病误诊分析65例

庞慧芳, 赵 秋, 侯 伟, 赵慧贞, 李德民, 王 渝, 覃 华

庞慧芳, 赵秋, 侯伟, 赵慧贞, 李德民, 覃华, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科 湖北省武汉市 430030
王渝, 华中科技大学同济医学院附属同济医院病理科 湖北省武汉市 430030
庞慧芳, 硕士, 主要从事消化系疾病的临床与基础研究.
作者贡献分布: 此研究由覃华与赵秋设计; 研究过程由庞慧芳、赵秋、侯伟、赵慧贞、李德民、王渝及覃华完成; 数据分析由庞慧芳与覃华完成; 本论文写作由庞慧芳与覃华完成.
通讯作者: 覃华, 主治医师, 430030, 湖北省武汉市解放大道1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科.
drqinhua@163.com
电话: 027-83663334
收稿日期: 2013-02-24 修回日期: 2013-03-18
接受日期: 2013-04-07 在线出版日期: 2013-05-18

Misdiagnosis of intestinal schistosomiasis: An analysis of 65 cases

Hui-Fang Pang, Qiu Zhao, Wei Hou, Hui-Zhen Zhao, De-Min Li, Yu Wang, Hua Qin

Hui-Fang Pang, Qiu Zhao, Wei Hou, Hui-Zhen Zhao, De-Min Li, Hua Qin, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China
Yu Wang, Department of Pathology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China
Correspondence to: Hua Qin, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 1095 Jiefang Avenue, Wuhan 430030, Hubei Province, China. drqinhua@163.com
Received: 2013-02-24 Revised: 2013-03-18
Accepted: 2013-04-07 Published online: 2013-05-18

Abstract

AIM: To analyze the endoscopic and pathological characteristics of intestinal schistosomiasis and to explore the reasons for its misdiagnosis.

METHODS: The medical history, endoscopic findings and pathologic characteristics of 65 patients with intestinal schistosomiasis who underwent colonoscopy from January 2000 to December 2012 at our hospital were retrospectively analyzed.

RESULTS: Intestinal schistosomiasis was not initially suggested by clinical and endoscopical diagnosis in all the 65 patients. Of all the misdiagnosed patients, 19 were misdiagnosed with ulcerative colitis, 4 with intestinal tuberculosis, 2 with Crohn's disease, 23 with colonic polyps, and 17 with colonic carcinoma. Of the 40 patients misdiagnosed with colonic polyps or carcinoma, 2 had high-grade intraepithelial neoplasia, 1 had low-grade intraepithelial neoplasia, 2 had canalicular adenoma, 1 had villous adenoma, and 1 had tubulovillous adenoma.

CONCLUSION: A thorough inquiry of medical history combined with colonoscopy biopsy of suspected lesions is important for improving the diagnostic accuracy of intestinal schistosomiasis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Intestinal schistosomiasis; Colonoscopy; Misdiagnosis

Pang HF, Zhao Q, Hou W, Zhao HZ, Li DM, Wang Y, Qin H. Misdiagnosis of intestinal schistosomiasis: An analysis of 65 cases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(14): 1351-1354 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1351.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i14.1351

摘要

目的: 分析血吸虫肠病的内镜表现及病理学特征, 探讨内镜误诊的原因以降低其误诊率.

方法: 回顾性分析我院消化内镜中心2000-01/2012-12经病理确诊为血吸虫肠病、但结肠镜检查误诊的65例患者的病史、结肠镜下表现以及组织病理学检查结果等临床资料, 分析结肠镜检查误诊的原因.

结果: 65例患者临床资料及内镜检查均未提示血吸虫肠病, 误诊为溃疡性结肠炎19例, 肠结核4例, Crohn病2例, 结肠息肉23例, 结肠癌17例. 误诊为结肠息肉和结肠癌的40例患者中合并高级别上皮内瘤变2例, 低级别上皮内瘤变1例, 管状腺瘤2例, 绒毛状腺瘤1例, 管状绒毛状腺瘤1例.

结论: 结肠镜检查前详细询问病史, 术中对可疑病变行多部位多个位点活检是提高血吸虫

■背景资料
血吸虫病是我国南方地区比较流行的一种寄生虫病, 随着血吸虫疫情的大力控制, 其临床发病率显著降低, 但近年来由于社会经济的发展, 流动人口的增多, 不仅少数流行区发病率有所回升趋势, 非传统的疫区也出现散发病例.

■同行评议者
王承党, 教授, 福建医科大学附属第一医院消化内科; 张国梁, 主任医师, 天津市第一中心医院消化内科

■研发前沿
血吸虫肠病临床上较少见，其临床表现缺乏特异性，易与炎症性肠病、肠结核、肠息肉等肠道疾病混淆. 因此，掌握血吸虫肠病的诊断及鉴别诊断对其降低误诊和漏诊极其重要，这也是我们消化内科医生亟待解决的问题.

肠病诊断准确率的重要手段.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 血吸虫肠病; 结肠镜检查; 误诊

核心提示: 为了提高血吸虫肠病的检出率，应在内镜探查之前详细询问患者病史.

庞慧芳, 赵秋, 侯伟, 赵慧贞, 李德民, 王渝, 覃华. 血吸虫肠病误诊分析65例. 世界华人消化杂志 2013; 21(14): 1351-1354
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1351.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i14.1351

0 引言

血吸虫病是血吸虫虫卵沉积于受累宿主的肝脏、肠道或膀胱周围血管引起的一种寄生虫病，全世界70多个国家估计有8亿人口面临血吸虫感染风险，非洲、亚洲及南美洲大约有2亿人口受血吸虫感染[1]. 日本血吸虫病是由日本血吸虫尾蚴感染引起的，是我国具有2100多年历史记载的热带疾病之一[2]. 经过60余年的努力防治，我国水网地区及部分丘陵地区的血吸虫病疫情基本得到控制，血吸虫病的发病率已大幅下降[3]，但长江流域中下游的湖北、湖南、江西、江苏、安徽等省市以及四川、云南两大内陆省等地的湖泊及沼泽地区仍有约40万人口感染血吸虫病[4]. 血吸虫肠病是指血吸虫虫卵沉积于结肠、直肠肠壁导致肠道损害所引起的临床病症，由于其临床表现缺乏特异性，与炎症性肠病等其他肠道疾病表现非常相似. 由于社会经济的发展，人口流动范围大，非传统的疫区也可能出现散发病例. 因此，血吸虫肠病很容易被漏诊或误诊. 为提高本病的内镜诊断率，本文回顾性分析我院消化内镜中心2000-01/2012-12经病理确诊为血吸虫肠病、但结肠镜检查误诊的65例患者的临床资料，分析血吸虫肠病误诊的原因，探讨降低血吸虫肠病误诊率的策略.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2000-01/2012-12我院消化内镜中心经病理检查确诊为血吸虫肠病但结肠镜检查误诊的患者共65例，其中男47例，女18例，年龄9-76岁，中位年龄47岁. 病程为1 mo至12年不等，中位病程4.5年. 具有疫区居住史者12例. 本病临床表现以腹胀、腹痛、腹泻、黏液血便为主，其中腹胀、腹痛40例，腹泻27例，大便2-6次/d不等，黏液血便18例，低热、消瘦12例，贫血7例.

■相关报道
郭洁和Cao等均报道过血吸虫肠病的内镜诊断、临床病理特征及误诊情况，认为结肠镜检查结合病变处肠道黏膜活检是提高血吸虫肠病诊断准确率的重要手段.

1.2 方法 所有患者均采用Olympus CF240/CF260型电子结肠镜检查，内镜下肉眼观察可疑病变处行多块活检；息肉样病变行高频电凝切除术后回收标本送检，术后门诊或住院观察. 所有标本均以4%多聚甲醛固定，石蜡包埋后4 μm连续切片，经苏木精和伊红(HE)常规染色后在光学显微镜下观察发现血吸虫虫卵而确诊[5].

2 结果

65例患者结肠镜检查时，镜下肉眼观察病变肠段肠壁僵硬、黏膜增粗增厚，多呈黄褐色颗粒样改变，表面伴有糜烂、出血及溃疡形成，血管网模糊或中断、纹理紊乱；表现为新生物者病变组织触之易出血，局部肠腔狭窄；少数患者表现为栗粒样结节，坏疽及脓肿. 病变受累部位以直肠和乙状结肠为主，散在或同时累及降结肠、横结肠、升结肠、回盲部等部位. 65例患者中误诊为溃疡性结肠炎19例，肠结核4例，Crohn病2例，结肠息肉23例，结肠癌17例. 误诊为结肠息肉和结肠癌的40例患者中合并高级别上皮内瘤变2例，低级别上皮内瘤变1例，管状腺瘤2例，绒毛状腺瘤1例，管状绒毛状腺瘤1例. 误诊结肠癌及合并高、低级别瘤变患者中年龄50岁以下为5例，50岁以上为14例. 病程多数长达5年以上. 11例患者检查申请单上提示大便隐血试验阳性，2例提示癌胚抗原异(carcinoembryonic antigen, CEA)常升高.

3 讨论

血吸虫肠病病变部位主要局限于痔上静脉和肠系膜下静脉分布范围之内，以结肠，尤其是直肠、乙状结肠和降结肠最为显著[6,7]. 血吸虫疫区具有明显疫水接触史的急性期血吸虫肠病患者很容易诊断，但慢性及晚期血吸虫肠病患者由于感染程度不同，轻者可无明显症状，重者长期或反复出现发热、腹痛、腹泻、黏液血便、腹泻与便秘交替、腹部包块、贫血、体重减轻等非特异性症状，在病史采集中若忽略询问血吸虫疫水接触史则较容易误诊或漏诊. 此外，临床上血吸虫肠病并非常见疾病，其结肠镜下表现与溃疡性结肠炎、Crohn病、肠结核极其相似，慢性血吸虫病性肉芽肿内镜表现可酷似结肠癌，若内镜医生对本病的临床特点及内镜表现的认识不足，则很容易发生漏诊和误诊[8].

所有65例血吸虫肠病患者结肠镜检查申请单均未提及患者曾有血吸虫疫水接触史，所有

患者均为活检后病理检查确诊, 临床诊断及结肠镜检查均未诊断本病, 其中误诊为溃疡性结肠炎19例, 肠结核4例, Crohn病2例, 结肠息肉23例, 结肠癌17例. 郭洁等[9]曾报道72例血吸虫肠病患者中14例出现误诊, 误诊率为19.44%, 其中误诊为溃疡性结肠炎7例, 回盲部肿瘤5例, 肠结核2例. Cao等[6]也报道过46例结肠血吸虫肠病患者中12例误诊, 误诊率达26.09%, 其中误诊为溃疡性结肠炎4例, Crohn病1例, 缺血性肠炎7例. 以上结果表明血吸虫肠病极易误诊, 分析其原因如下: 血吸虫肠病的肠道黏膜早期表现为充血水肿、溃疡形成, 长期反复感染可导致肠壁增厚、肉芽肿形成、或肠腔狭窄变硬等改变, 这与相对多发的溃疡性结肠炎或肠结核活动期或恢复期表现非常相似. 而肠腔内增生性小隆起及新生物或肿瘤样病变形成, 表面结节不平、发生糜烂、出血及溃疡形成时则往往只考虑为息肉性病变或结肠癌等常见疾病, 若无相关病史资料极易误诊或漏诊. 溃疡性结肠炎的病变主要好发于直肠、乙状结肠, 多呈连续性分布, 黏膜充血水肿, 颗粒状, 糜烂、出血及溃疡形成, 以腹痛、腹泻、黏液血便多见[10,11], 这与左半结肠受累为主的急性期血吸虫肠病及慢性活动性血吸虫肠病的临床及内镜表现极其相似; Crohn病的病变分布多呈节段性, 可发生在不同肠段, 溃疡、瘢痕及假息肉形成多见[12], 这与不同结肠段受累的慢性血吸虫肠病难以鉴别, 二者病程均较长. 肠结核主要好发于回盲部, 低热、乏力、消瘦、腹泻与便秘交替, 肠壁溃疡、糜烂及干酪样肉芽肿形成[13], 与回盲部结节样或肉芽肿性慢性血吸虫肠病易混淆. 此外, 位于直肠、乙状结肠的肉芽肿性血吸虫肠病肿块较大, 表面结节不平, 或类似菜花状, 也具有发热、贫血、腹部包块等症状, 因此缺乏经验的内镜医生容易误诊为结肠癌[14]. 结肠镜直视下活检行压片检查或病理切片检查是诊断血吸虫肠病的金标准[9,15], 肠黏膜内发现血吸虫虫卵沉积即可确诊. 因此, 在结肠镜检查时发现疑似血吸虫肠病的患者应及时补充询问患者是否有血吸虫疫水接触史, 可疑病变处多点活检以免漏诊或误诊.

血吸虫感染晚期肠壁纤维组织增生、增厚, 部分黏膜坏死脱落或萎缩, 部分黏膜增殖形成息肉样改变, 同时伴发黏膜腺体发生不同程度的异型增生, 上皮内瘤变等癌前病变. 虽然血吸虫感染与大肠癌发病之间的联系仍存在争论[16-19], 但多数学者认为血吸虫肠病是结直肠癌发病的风险因素, 故早期采用可靠方法明确诊断可防止诱发癌变的可能. 本研究中亦有部分患者合并不同级别的上皮内瘤变以及腺瘤等, 误诊结肠癌、合并高级别瘤变患者中年龄>50岁, 病程超过5年以上占多数, 并且部分患者提示大便隐血试验阳性及CEA升高等异常信号,因此很容易将其误诊和漏诊.

血吸虫肠病与炎症性肠病及肠结核的鉴别诊断是消化科医师面临的最棘手的问题之一, 消化内科医生应该全面认识血吸虫肠病的发病机制及临床表现, 尤其对内镜下肠道黏膜的复杂多样性表现应加以鉴别认识. 目前认为, 血吸虫肠病的内镜下典型表现为肠道黏膜粗糙不平, 分布较密集的灰黄色或黄白色颗粒样结节, 血管网模糊或中断、纹理紊乱[5,9]. 因此, 消化内科医生在临床工作中, 申请行结肠镜检查前应详细询问病史, 尤其针对来自血吸虫疫区、伴有肠道症状及大便性状改变的患者, 术前需进行常规检查, 包括: 血常规, 血吸虫抗体检测及留取新鲜粪便进行镜检或孵化培养, 如外周血以嗜酸性粒细胞增高显著, 血吸虫抗体阳性, 镜检发现虫卵或孵化出毛蚴即可提示血吸虫感染. 对于慢性血吸虫病患者, 由于粪检阳性率较低, 需行结肠镜检查, 对肠道可疑病变处多点活检, 以免漏诊或误诊. 黏膜活检或黏膜压片检查找到血吸虫卵即可确诊血吸虫肠病, 一旦明确血吸虫感染应予以吡喹酮治疗, 同时观察病情变化和治疗转归情况, 使患者在最大限度上受益.

■创新盘点

本文通过回顾性分析血吸虫肠病与炎症性肠病、肠结核、肠息肉及结肠癌之间的误诊情况, 分析指出结肠镜直视下活检行压片检查或病理切片检查是诊断血吸虫肠病的金标准.

■应用要点

针对肠道症状及大便性状改变的患者, 首先详细询问病史, 如有疫区居住史或疫水接触史应对其进行血常规、血吸虫抗体检测、留取新鲜粪便进行镜检或孵化培养及结肠镜检查结合对肠道可疑病变处多点活检, 以便提高血吸虫肠病的诊断率, 进一步防止诱发结肠癌的可能.

4 参考文献

1 Steinmann P, Keiser J, Bos R, Tanner M, Utzinger J. Schistosomiasis and water resources development: systematic review, meta-analysis, and estimates of people at risk. *Lancet Infect Dis* 2006; 6: 411-425 [PMID: 16790382]

2 Zhou XN, Wang LY, Chen MG, Wu XH, Jiang QW, Chen XY, Zheng J, Utzinger J. The public health significance and control of schistosomiasis in China--then and now. *Acta Trop* 2005; 96: 97-105 [PMID: 16125655]

3 林丹丹, 吴晓华, 姜庆五, 林矫矫, 周晓农. 我国血吸虫病防治研究的战略重点思考. 中国血吸虫病防治杂志 2009; 21: 1-5

4 郝阳, 郑浩, 朱蓉, 郭家钢, 吴晓华, 王立英, 陈朝, 周晓农. 2008年全国血吸虫病疫情通报. 中国血吸虫病防治杂志 2009; 21: 451-456

5 吴泽生, 杨理伟, 施荣杰. 慢性结肠血吸虫病358例临床及内镜表现. 临床荟萃 2010; 25: 589-590

6 Cao J, Liu WJ, Xu XY, Zou XP. Endoscopic findings and clinicopathologic characteristics of colonic schistosomiasis: a report of 46 cases. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 723-727 [PMID: 20135720 DOI: 10.3748/wjg.v16.i6.723]

7 高龙森. 纤结镜诊断大肠血吸虫45例统计分析. 工企

■同行评价
血吸虫肠病在某些地区并非罕见病或少见病, 但是医生的认识有限, 非常容易误诊或者漏诊. 本文对于该病的诊断具有一定的指导意义.

医刊 2006; 19: 28-29
8 施荣杰, 杨理伟, 吴泽生, 何昉, 李正金. 结肠血吸虫病误诊21例分析. 中国误诊学杂志 2010; 10: 1631-1632
9 郭洁, 沈磊, 沈志祥, 谭诗云, 罗和生, 滕小军. 血吸虫肠病的内镜诊断及病理特征. 中华消化内镜杂志 2006; 23: 90-93
10 林小兰, 刘圣活, 李珍. 溃疡性结肠炎227例内镜下表现及疗效观察. 基层医学论坛 2011; 15: 521-522
11 葛大赫. 溃疡性结肠炎64例分析. 中国实用医药 2011; 6: 67-68
12 杨晓瑜. 克罗恩病与溃疡性结肠炎鉴别诊断的临床病例分析. 临床和实验医学杂志 2010; 9: 129-133
13 范明, 王永利. 肠结核的临床诊疗分析. 中国当代医药 2011; 18: 55-56
14 徐佳. 血吸虫性结肠病变误诊为结肠癌1例分析并文献复习. 中国误诊学杂志 2011; 11: 904
15 黄邵萍. 血吸虫肠病误诊为肠结核1例分析. 中国误诊学杂志 2010; 10: 871-872
16 Yosry A. Schistosomiasis and neoplasia. *Contrib Microbiol* 2006; 13: 81-100 [PMID: 16627960]
17 Qiu DC, Hubbard AE, Zhong B, Zhang Y, Spear RC. A matched, case-control study of the association between Schistosoma japonicum and liver and colon cancers, in rural China. *Ann Trop Med Parasitol* 2005; 99: 47-52 [PMID: 15701255 DOI: 10.1179/136485905X19883]
18 Bharti AR, Weidner N, Ramamoorthy S. Chronic schistosomiasis in a patient with rectal cancer. *Am J Trop Med Hyg* 2009; 80: 1-2 [PMID: 19141828]
19 H Salim OE, Hamid HK, Mekki SO, Suleiman SH, Ibrahim SZ. Colorectal carcinoma associated with schistosomiasis: a possible causal relationship. *World J Surg Oncol* 2010; 8: 68 [PMID: 20704754 DOI: 10.1186/1477-7819-8-68]

编辑 田滢 电编 闫晋利

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版)

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

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

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

世界华人消化杂志 2013年5月18日; 21(14): 1355-1359
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

溃疡性结肠炎合并强直性脊柱炎与溃疡性结肠炎相关骶髂关节炎的临床特点

田 雨, 李俊霞, 李懿璇, 王化虹, 刘新光

田雨, 李俊霞, 李懿璇, 王化虹, 刘新光, 北京大学第一医院消化内科 北京市100034
田雨, 硕士, 主治医师, 主要从事消化系疾病的临床工作.
作者贡献分布: 此研究由李俊霞与田雨共同设计; 患者的随访由李俊霞、田雨、王化虹及李懿璇完成; 数据分析由田雨与李俊霞共同完成; 患者治疗方案的制定由李俊霞、王化虹及刘新光制定; 文章的撰写由田雨与李俊霞完成.
通讯作者: 李俊霞, 副教授, 副主任医师, 100034, 北京市西城区西什库大街8号, 北京大学第一医院消化内科. lijxtom@yahoo.com.cn
电话: 010-83575675
收稿日期: 2013-03-21 修回日期: 2013-04-10
接受日期: 2013-04-12 在线出版日期: 2013-05-18

Clinical characteristics of ulcerative colitis with ankylosing spondylitis *vs* sacroiliitis with ulcerative colitis

Yu Tian, Jun-Xia Li, Yi-Xuan Li, Hua-Hong Wang, Xin-Guang Liu

Yu Tian, Jun-Xia Li, Yi-Xuan Li, Hua-Hong Wang, Xin-Guang Liu, Department of Gastroenterology, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China
Correspondence to: Jun-Xia Li, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Peking University First Hospital, 8 Xishenku Street, Beijing 100034, China. lijxtom@yahoo.com.cn
Received: 2013-03-21 Revised: 2013-04-10
Accepted: 2013-04-12 Published online: 2013-05-18

Abstract

AIM: To compare the similarities and differences in clinical features of ulcerative colitis (UC) with ankylosing spondylitis (AS) *vs* sacroiliitis with UC.

METHODS: Clinical data for 478 UC patients treated from January 1995 to December 2012 at Peking University First Hospital were retrospectively analyzed to assess the incidence, clinical features and laboratory findings of UC with AS and sacroiliitis with UC. The patients with UC with AS were followed to observe the effect of drug treatment.

RESULTS: Of all 478 UC cases, 3.1% (15) had UC with AS, significantly lower than the incidence of sacroiliitis with UC. Of 15 cases of UC with AS, AS onset was earlier in 9 cases and UC onset earlier in 6 cases. Patients with UC with AS were predominantly males, and the ratio of males to females was 6.5:1, which was significantly higher than that of sacroiliitis with UC. The onset age of joint symptoms in patients with UC with AS was significantly lower than that in patients with sacroiliitis with UC (26.9 years *vs* 38.8 years). There was no difference in intestinal symptoms between the two groups. Laboratory tests, especially HLA-B27 positivity test, played a very important role in differential diagnosis between the two conditions. Fourteen patients with UC with AS had received a sufficient dose of sulfasalazine (SASP) and were followed. The average follow-up period was 3.5 years. Good therapeutic effect was achieved in 11 patients. Joint pain disappeared, and intestinal inflammation clinically remitted. No significant adverse effect occurred.

CONCLUSION: UC with AS is not uncommon. The attack of AS could be prior to or after the onset of UC. For young male UC patients whose vertebral joint symptoms are severe, especially when joint symptoms and intestinal inflammation are not paralleled, UC with AS should be suspected and HLA-B27 test should be done immediately. Because of good clinical effect of SASP in relief of symptoms, it is recommended as the basic treatment for UC with AS.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Ulcerative colitis; Ankylosing spondylitis; Sacroiliitis with ulcerative colitis; Therapy

Tian Y, Li JX, Li YX, Wang HH, Liu XG. Clinical characteristics of ulcerative colitis combined with ankylosing spondylitis *vs* sacroiliitis with ulcerative colitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(14): 1355-1359 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1355.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i14.1355

摘要

目的: 比较溃疡性结肠炎(ulcerative colitis,

■背景资料
骶髂关节炎是溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)常见的肠外表现之一, 表现为腰骶部疼痛和活动受限, 其症状可随肠道炎症的好转而消失. 而UC合并强直性脊柱炎(ankylosing spondylitis, AS)患者的关节症状重, 治疗不及时会导致畸形、脊柱僵直. 了解两者的差异, 尽早做出正确诊断可以使患者收到更加满意的治疗效果.

■同行评议者
卜平, 教授, 主任医师, 扬州大学医学院, 苏北人民医院消化内科308病区; 江学良, 教授, 主任医师, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

■研发前沿
有研究发现UC与AS存在着一些共同的致病基因位点，如：IL23R、PSMG1和ERAP1/2等. 还有研究发现中轴关节症状的发生与UC患者肠道菌群和肠屏障功能的变化相关.

UC)合并强直性脊柱炎(ankylosing spondylitis, AS)与UC相关骶髂关节炎两组患者临床特点的异同. 分析UC合并AS的药物治疗效果.

方法: 回顾1995-01/2012-12在北京大学第一医院门诊就诊及住院治疗的UC患者病历, 收集UC合并AS患者以及UC相关骶髂关节炎患者的发病情况、临床特点以及实验室检查结果. 对UC合并AS患者进行随访, 观察其药物治疗效果.

结果: 全部478例UC患者中合并AS有15例, 发生率为3.1%, 明显低于UC相关骶髂关节炎的发生率6.5%. 15例UC合并AS患者有9例AS发病在先, 有6例UC发病在先. 本组UC合并AS患者以男性为主, 男女比为6.5∶1, 明显高于UC相关骶髂关节炎者的0.8∶1. UC合并AS患者的关节症状发病年龄明显低于UC相关骶髂关节炎者, 平均年龄分别为26.9岁和38.8岁. 两组患者的肠道情况无差异, 而实验室检查中HLA-B27阳性对合并AS的诊断有重要提示作用. 14例UC合并AS患者在确定诊断之后接受了足量的柳氮磺胺吡啶(sulfasalazine, SASP)治疗并且进行随访, 平均随访3.5年. 其中11例取得良好的治疗效果, 关节疼痛消失, 肠道炎症到达临床缓解, 且未发生严重的不良反应.

结论: UC合并AS并非罕见, 本组患者的发生率为3.1%. AS的发病可在UC发病之前或之后. 对于年轻的男性UC患者中轴关节症状较重者, 应考虑到UC合并AS的诊断并及时筛查HLA-B27. 足量的SASP既可以使关节症状得以改善, 又可以使大部分肠道炎症达到临床缓解, 故推荐作为UC合并AS的基础治疗.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 溃疡性结肠炎; 强直性脊柱炎; 溃疡性结肠炎相关骶髂关节炎; 治疗

核心提示: 溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)患者合并强直性脊柱炎(ankylosing spondylitis)并非罕见. 青年男性的UC患者出现严重的腰背疼痛时要考虑到这一情况. 及时筛查HLA-B27可作为鉴别诊断的重要依据. 推荐的基础治疗方案是足量的柳氮磺胺吡啶.

田雨, 李俊霞, 李懿璇, 王化虹, 刘新光. 溃疡性结肠炎合并强直性脊柱炎与溃疡性结肠炎相关骶髂关节炎的临床特点. 世界华人消化杂志 2013; 21(14): 1355-1359 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1355.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i14.1355

■相关报道
挪威学者Palm报道了炎症性肠病与AS合并的发生率, 并且探讨了与常见的炎症性肠病相关的骶髂关节炎之间的关系. 乌克兰学者Dorofeyev发现这类患者存在着炎症因子水平的差异和肠道菌群的改变.

0 引言
溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种慢性非特异性肠道炎症疾病, 其肠道外表现主要包括关节损害、皮肤黏膜损害、眼病和肝胆疾病等[1]. 文献报道UC相关的骶髂关节炎发生率大约为20%[2], 是UC肠外表现中较常发生的, 通常不会引起脊柱强直. 而强直性脊柱炎(ankylosing spondylitis, AS)是一种主要侵犯骶髂关节和脊柱旁软组织的慢性进行性疾病, 严重者导致脊柱畸形、僵直, 活动受限[3]. UC合并AS的发生率低但致残率高, 了解其临床特点对及时诊断并给予恰当治疗十分重要.

1 材料和方法
1.1 材料 以1995-01/2012-12在北京大学第一医院门诊及住院治疗的478例UC患者为研究对象, 诊断符合2012年对我国炎症性肠病的诊治共识意见中UC的诊断依据[4], 其中合并AS患者的诊断参考我国2010年对AS诊治指南中的诊断标准[3]. UC相关骶髂关节炎的诊断依据为: 腰骶部疼痛症状伴骶髂关节活动受限或影像学发现的骶髂关节炎, 同时需除外AS、类风湿关节炎或腰椎间盘脱出等疾病.

1.2 方法 收集UC合并AS与UC相关骶髂关节炎两组患者UC活动期的临床资料, 包括: UC症状的发生年龄、关节症状的发生年龄、性别、UC累及的肠段、UC症状的严重程度、关节活动受限情况、HLA-B27、p-ANCA. 对UC合并AS的15例患者进行随访, 对给予治疗的效果做出评价, 包括UC治疗效果(分为临床缓解、好转、无效和加重)和关节炎治疗效果(分为疼痛消失、减轻、无效或加重).

统计学处理 计量资料用mean±SD表示, 两组间比较采用t检验, 定性资料用百分比表示, 两组间比较采用χ^2检验, 以$P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果
2.1 UC合并AS与UC相关骶髂关节炎的一般情况 在全部就诊的478例UC患者中合并AS的15例占3.1%, UC相关的骶髂关节炎有31例占6.5%, 两组患者发病比例的差异具有统计学意义(P = 0.02). UC合并AS的患者中男性占绝大多数, 15例中男13例, 女2例, UC相关骶髂关节炎的男女比例相当, 两组男女比例差异具有统计学意义(P = 0.007). UC合并AS的15例患者中关节症状

表 1 UC合并AS与UC相关骶髂关节炎的一般情况的比较 *n*(%)

	UC合并AS	UC相关骶髂关节炎	*P*值
发病比例	15(3.1)	31(6.5)	0.02
男女比例	6.5∶1	0.8∶1	0.007
关节症状平均发病年龄(mean ± SD)	26.9 ± 3.4	38.8 ± 12.9	< 0.001
UC平均发病年龄(mean ± SD)	31.7 ± 10.7	34.2 ± 14.1	0.61
关节症状首发比例	9(60)	2(6.5)	< 0.001

UC: 溃疡性结肠炎; AS: 强直性脊柱炎.

表 2 UC合并AS与UC相关骶髂关节炎的临床特点及实验室检查的比较 *n*(%)

	UC合并AS	UC相关骶髂关节炎	*P*值
UC累及的肠段			0.35
全结肠/广泛型	12(80)	19(61.3)	
左半/乙状/直型	3(20)	12(38.7)	
UC的严重程度			0.16
重度	11(73.3)	16(51.6)	
轻-中度	4(26.7)	15(48.4)	
关节活动受限情况			0.009
无/轻度受限	4(28.6)	21(67.7)	
重度受限/强直	11(71.4)	10(32.3)	
实验室检查			
HLA-B27阳性率	13(86.7)	2(6.5)	< 0.001
p-ANCA阳性率	8(53.3)	13(41.9)	0.47

UC: 溃疡性结肠炎; AS: 强直性脊柱炎.

首发的有9例. UC相关骶髂关节炎的关节症状的发生几乎都与肠道炎症活动相伴随, 两组关节症状首发比例的差异具有统计学意义(P<0.001). 两组患者的平均肠道发病年龄之间差异无统计学意义, 但关节症状平均发病年龄间的差异具有统计学意义(P<0.001)(表1).

2.2 UC合并AS与UC相关骶髂关节炎的临床特点及实验室检查 两组患者的肠道症状, 包括受累肠段、严重程度比较差异均无统计学意义, 而关节症状的严重程度比较可以看出UC合并AS关节活动受限甚至出现关节强直的比例达到71.4%, 而UC相关骶髂关节炎患者这一比例为32.3%, 两组间差异具有统计学意义(P = 0.009). 实验室检查中HLA-B27阳性率两组间差异具有统计学意义(P<0.001), p-ANCA的阳性率两组间差异无统计学意义(表2).

2.3 UC合并AS治疗方案选择与治疗效果 15例UC合并AS的患者平均随访3.5年(1-6年), 在诊断两者合并后14例选择过柳氮磺胺吡啶(sulfasalazine, SASP)口服诱导缓解治疗, 剂量在3-6 g/d, 分3-4次服用. 在这14例患者中的11例治疗效果良好, 不但UC症状达到临床缓解而且关节疼痛症状明显减轻, 但对已经形成僵直的关节活动度没有改善. 3例患者UC症状为临床好转或无效, 关节疼痛症状有2例减轻. 15例UC合并AS患者中的4例患者接受了糖皮质激素治疗, 其中2例UC为临床无效, 另2例UC为临床好转. 关节情况4例均为疼痛减轻, 但仍然是对已经形成僵直的关节活动度没有改善. 1例UC症状较重的患者接受了英夫利昔单抗(infliximab, IFX)治疗, 但是其肠道和关节症状均未到达缓解和症状消失, 转而继续使用SASP长期治疗. 另1例激素无效的UC患者接受了手术治疗.

15例UC合并AS的患者中有9例曾经规律服用非甾体类解热止痛药(non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs)治疗关节疼痛症状, 且均为确诊UC前的用药, 在诊断UC后停止使用.

3 讨论

本研究发现UC与AS合并的发生率为3.1%, 这

■创新盘点
国内缺少UC合并与AS发生率的相关报道. 本研究比较了其与UC相关骶髂关节炎的临床异同点, 为临床鉴别诊断提供了思路.

■应用要点
本研究提示临床医师需注意UC有合并AS的风险, 而且并非罕见. 早期诊断可以使这些患者免于因长期应用非甾体类止痛药而导致的肠道炎症加重.

■名词解释
肠外表现: UC患者常见的肠外表现是关节、皮肤和眼睛的病变, 这些表现往往与肠道炎症程度相关. 骶髂关节: 骶骨与髂骨之间的关节连接, 嵌合紧密, 有坚强的韧带加固, 故属于微动关节.

与国外文献报道的发生率十分接近[2], 说明两者的合并发生在国人也并非罕见. 基于整体人群的队列研究业已证实AS在IBD患者中的发生率3.7%[5], 明显高于正常人群的1%[6].

本组UC患者骶髂关节炎的发生率为6.5%, 较文献报道的发生率低[7,8], 分析原因可能是UC患者并非每一次疾病活动都伴有关节的表现, 以往出现过的症状未能统计在内而被遗漏, 也存在部分患者关节症状不突出, 没有引起医生重视从而漏诊的可能. 另外也有国人UC的肠外表现发生率较西方人低的观点[9]. 即使如此, 统计学分析发现UC相关骶髂关节炎的发生率也要显著高于UC合并AS的发生率, 两组间差异具有统计学意义, 说明UC患者出现腰背痛的最常见的原因还是其相关的骶髂关节炎, 但对于UC合并AS及UC相关骶髂关节炎的鉴别诊断十分必要. 本研究观察到的15例UC合并AS患者中, 9例为首先诊断了AS, 而后(5-15年)出现肠道症状最终确诊UC. 这9例患者在AS治疗的早期都接受了规律使用NSAIDs, NSAIDs对肠道的损伤和诱发UC症状加重是肯定的[10,11]. 本研究发现的UC合并AS其肠道炎症程度重, 受累肠段长, 推测部分与NSAIDs的使用有关系. 而另外6例, UC诊断在先, 虽然他们并没有规律服用NSAIDs治疗随后出现的腰背痛, 但是他们治疗UC多首选了5-氨基水杨酸(5-aminosalicylate, 5-ASA), 5-ASA对UC相关骶髂关节炎有效果[12]而对AS的关节症状无效, 最终2例直到出现关节僵直才诊断AS, 改用SASP治疗关节疼痛好转, 但脊柱强直无法改变. 所以我们既要重视UC患者出现中轴关节症状时的鉴别诊断, 也要注意AS患者的肠道情况.

对于AS来说, 男性的发病率明显高于女性, 在人群中男女比大约10∶1-5∶1[13], 本研究发现UC合并AS的男女比例为6.5∶1, 而UC相关骶髂关节炎男女比例为0.8∶1, 两者的差异具有统计学意义. AS的发病年龄较早, 本研究UC合并AS关节症状的平均发病年龄为26.9岁(最大发病年龄32岁), 而UC相关骶髂关节炎的平均发生年龄为38.8岁. 因后者是与肠道炎症发生相伴随, 且并非每一次肠道症状反复时关节症状都有表现, 所以随着UC病程的发展, 其发生年龄自然也会增加. 两者的差异具有明显的统计学意义, 可以作为一项比较重要的鉴别点.

虽然15例UC合并AS的肠道受累均较广泛(12例为全结肠型), 肠道炎症程度重(11例判定为重度活动), 但是与UC相关骶髂关节炎比较, 两项的比例在两组间并未发现统计学差异. 这提示无法从UC肠道的情况推测其是否可能合并AS, 这与文献的报道也是吻合的[5]. 从关节疼痛程度和关节僵直的程度分析, 两组间的差异存在统计学意义. 实验室检查为我们的鉴别诊断提供了有力的帮助, HLA-B27对合并AS有很大的提示, 应作为每一位伴有腰背疼痛的UC患者必须检测的项目. p-ANCA阳性率在两组间无统计学差异, 但是今后也应列为AS患者出现腹泻时的检查项目.

本研究中发现, 足量SASP(≥3 g/d)对于大多数的UC合并AS的患者取得了满意的治疗效果. 而最长患者随访超过6年, 未出现严重的SASP相关的不良反应. 足量SASP对于肠道的治疗效果似乎要略逊于对关节的治疗效果. 4例因肠道症状缓解不满意的患者接受糖皮质激素的治疗, 但效果并不满意, 最终1例选择外科手术治疗. IFX对UC及AS均有良好的疗效[11,14], 但是使用IFX的该例患者使用时关节强直已经形成, 肠道和关节症状的缓解程度均不满意, 最终该患者还是应用SASP做维持治疗.

尽管有诸多临床特点的提示, 但实际工作中早期发现UC与AS合并仍然有难度. 本研究中的15例UC合并AS患者其中11例脊柱强直明显, 其生活质量差, 此时药物治疗效果有限. 近年全基因组相关研究(genome wide association studies, GWAS)为发现特定基因与疾病的关联提供了更加全面的信息. 基于GWAS的研究成果, 国内外学者提出了两者发病相关的很多基因[15,16], 如: *IL23R*、*PSMG1*和*ERAP1/2*[17]. 相信不远的将来, 通过基因筛查就可以对两者合并的情况作出早期诊断, 甚至作出预测, 使临床早期干预成为可能.

总之, UC患者出现腰背疼痛时常见的原因是UC相关骶髂关节炎, 但是也要考虑到UC与AS合并的情况, 其发生率大约为3.1%. AS的发病可在UC发病之前或之后, 对于年轻男性的UC患者中轴关节症状较重者, 尤其是关节症状与肠道炎症不平行者要注意UC与AS合并的发生, 及时筛查HLA-B27可作为鉴别诊断的重要依据. 对于UC合并AS患者的基础治疗推荐服用足量的SASP, 他既可以使关节症状得以改善, 又可以使大部分肠道炎症达到临床缓解.

4 参考文献

1 Danese S, Fiocchi C. Ulcerative colitis. *N Engl J*

Med 2011; 365: 1713-1725 [PMID: 22047562 DOI: 10.1056/NEJMra1102942]
2 De Vos M. Review article: joint involvement in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20 Suppl 4: 36-42 [PMID: 15352892]
3 中华医学会风湿病学分会. 强直性脊柱炎诊断及治疗指南. 中华风湿病学杂志 2010; 14: 557-559
4 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2012年广州). 中华内科杂志 2012; 51: 818-831
5 Palm O, Moum B, Ongre A, Gran JT. Prevalence of ankylosing spondylitis and other spondyloarthropathies among patients with inflammatory bowel disease: a population study (the IBSEN study). *J Rheumatol* 2002; 29: 511-515 [PMID: 11908564]
6 Helmick CG, Felson DT, Lawrence RC, Gabriel S, Hirsch R, Kwoh CK, Liang MH, Kremers HM, Mayes MD, Merkel PA, Pillemer SR, Reveille JD, Stone JH. Estimates of the prevalence of arthritis and other rheumatic conditions in the United States. Part I. *Arthritis Rheum* 2008; 58: 15-25 [PMID: 18163481 DOI: 10.1002/art.23177]
7 Dorofeyev AE, Vasilenko IV, Rassokhina OA. Joint extraintestinal manifestations in ulcerative colitis. *Dig Dis* 2009; 27: 502-510 [PMID: 19897966 DOI: 10.1159/000233289]
8 Vavricka SR, Brun L, Ballabeni P, Pittet V, Prinz Vavricka BM, Zeitz J, Rogler G, Schoepfer AM. Frequency and risk factors for extraintestinal manifestations in the Swiss inflammatory bowel disease cohort. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 110-119 [PMID: 20808297 DOI: 10.1038/ajg.2010.343]
9 Jiang XL, Cui HF. An analysis of 10218 ulcerative colitis cases in China. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 158-161 [PMID: 11833094]
10 Baumgart DC, Sandborn WJ. Inflammatory bowel disease: clinical aspects and established and evolving therapies. *Lancet* 2007; 369: 1641-1657 [PMID: 17499606]
11 Rudwaleit M, Baeten D. Ankylosing spondylitis and bowel disease. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2006; 20: 451-471 [PMID: 16777576]
12 Ananthakrishnan AN, Higuchi LM, Huang ES, Khalili H, Richter JM, Fuchs CS, Chan AT. Aspirin, nonsteroidal anti-inflammatory drug use, and risk for Crohn disease and ulcerative colitis: a cohort study. *Ann Intern Med* 2012; 156: 350-359 [PMID: 22393130 DOI: 10.1059/0003-4819-156-5-201203060-00007]
13 Slobodin G, Rosner I, Rimar D, Boulman N, Rozenbaum M, Odeh M. Ankylosing spondylitis: field in progress. *Isr Med Assoc J* 2012; 14: 763-767 [PMID: 23393716]
14 Goh L, Samanta A. Update on biologic therapies in ankylosing spondylitis: a literature review. *Int J Rheum Dis* 2012; 15: 445-454 [PMID: 23083034 DOI: 10.1111/j.1756-185X.2012.01765.x]
15 Brown MA. Genetics of ankylosing spondylitis. *Curr Opin Rheumatol* 2010; 22: 126-132 [PMID: 20084006 DOI: 10.1097/BOR.0b013e3283364483]
16 Duerr RH, Taylor KD, Brant SR, Rioux JD, Silverberg MS, Daly MJ, Steinhart AH, Abraham C, Regueiro M, Griffiths A, Dassopoulos T, Bitton A, Yang H, Targan S, Datta LW, Kistner EO, Schumm LP, Lee AT, Gregersen PK, Barmada MM, Rotter JI, Nicolae DL, Cho JH. A genome-wide association study identifies IL23R as an inflammatory bowel disease gene. *Science* 2006; 314: 1461-1463 [PMID: 17068223]
17 Lees CW, Barrett JC, Parkes M, Satsangi J. New IBD genetics: common pathways with other diseases. *Gut* 2011; 60: 1739-1753 [PMID: 21300624 DOI: 10.1136/gut.2009.199679]

编辑 田滢 电编 闫晋利

■同行评价
本文对UC合并AS与UC相关骶髂关节炎的临床特点进行分析, 有助于临床医师提高认识和增强鉴别诊断能力, 对选择合适的治疗方法也有一定临床意义.

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》栏目设置

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2013年5月18日; 21(14): 1360-1365
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

慢性便秘患者报告临床结局评估量表的性能评价和分值意义判定

金 洵, 丁曙晴, 丁义江, 王玲玲, 张 华, 王丽雯, 刘妮妮, 王 静, 曹建葆

■背景资料
随着医学模式的改变, 综合评价患者主观感受、功能状态和生存质量的PRO指标成为疗效评价的热点, 慢性便秘适合运用PRO疗效评估方法, 但慢性便秘PRO和生存质量测评量表国内尚无研制, 国外量表经翻译引进, 尚需进行科学性考评和文化调适, 且有文化依赖性. 因此有必要研制符合中国文化背景、反映中医药治疗有效作用点、关注患者生存质量的慢性便秘PRO评估量表.

金洵, 王玲玲, 王丽雯, 刘妮妮, 南京中医药大学中医学一级学科 江苏省南京市 210029
丁曙晴, 丁义江, 王静, 曹建葆, 南京市中医院肛肠科 江苏省南京市 210001
张华, 东南大学公共卫生学院 江苏省南京市 210009
金洵, 主要从事盆底功能障碍性疾病的中西医诊疗.
江苏高校优势学科建设工程基金资助项目, No. YS2012ZYX412
南京中医药大学中医学一级学科开放课题基金资助项目
作者贡献分布: 此课题由金洵、丁曙晴、丁义江及王玲玲设计; 临床数据采集由王丽雯、刘妮妮、王静及曹建葆操作完成; 统计分析由金洵与张华完成; 论文撰写由金洵完成.
通讯作者: 丁曙晴, 210001, 江苏省南京市金陵路1号, 南京市中医院肛肠科编辑部, 南京中医药大学第三附属医院肛肠科.
njgczx@gmail.com
收稿日期: 2013-02-25 修回日期: 2013-03-25
接受日期: 2013-04-07 在线出版日期: 2013-05-18

Validation and score meaning of the Patient-Reported Outcome of Chronic Constipation rating scale

Xun Jin, Shu-Qing Ding, Yi-Jiang Ding, Ling-Ling Wang, Hua Zhang, Li-Wen Wang, Ni-Ni Liu, Jing Wang, Jian-Bao Cao

Xun Jin, Ling-Ling Wang, Li-Wen Wang, Ni-Ni Liu, Department of Traditional Chinese Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, Jiangsu Province, China
Shu-Qing Ding, Yi-Jiang Ding, Jing Wang, Jian-Bao Cao, Department of Anorectal, Traditional Chinese Medicine Hospital of Nanjing, Nanjing 210001, Jiangsu Province, China
Hua Zhang, Southeast University, Nanjing 210009, Jiangsu Province, China
Supported by: the Priority Academic Program Development of Jiangsu Higher Education Institutions, No. YS2012ZYX412; the Open Project of Department of Traditional Chinese Medicine of Nanjing University of Chinese Medicine
Correspondence to: Shu-Qing Ding, Editorial Department of Nanjing TCM Hospital, Anorectal Department of the Third Affiliated Hospita of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, 1 Jinling Road, Nanjing 210001, Jiangsu Province, China. njgczx@gmail.com
Received: 2013-02-25 Revised: 2013-03-25
Accepted: 2013-04-07 Published online: 2013-05-18

Abstract

AIM: To evaluate the feasibility, reliability and validity of the Patient-Reported Outcome of Chronic Constipation rating scale V2.0 (CC-PRO V2.0).

METHODS: In total, 521 patients with chronic constipation and 76 healthy adults completed the questionnaires. Patients completed the scale within 24 h after enrollment. Fifty of these patients were selected randomly to fill in the scale again after two courses of sequencing rehabilitation, while 30 of the patients completed the scale again in the first 72 h after evaluation.

RESULTS: (1) The receptance rate was 92.1%, the accomplishment rate was 97.4%, and the accomplishment time was 12.14 min ± 7.79 min; (2) Internal reliability: except for split-half reliability coefficient of satisfaction, the other domains and the total score of the questionnaire were all over 0.7; (3) Remeasure reliability: four domains and the total score of the questionnaire were all over 0.7; (4) Content validity: the coefficient correlation between domains and total score, between items and total score, and between items and domains were all over 0.7; (5) Construct validity: the accumulative offer rate of variance was 72.245% in factor analysis, and the construction of the questionnaire was in line with the theory scheme; (6) Responsibility: Statistical significance existed between patients with chronic constipation and normal controls in scores of items, domains and general concept (all $P < 0.05$); (7) The questionnaire was used to evaluate the quality of life of patients with chronic constipation, and the score meaning included: Normal: total score ⩽ 88; Slightly poor: 88 < total score ⩽ 121; Poor: 121 < total score ⩽ 160; Very poor: 160 < total score ⩽ 199; Quiet poor: total score >199.

CONCLUSION: CC-PRO V2.0 is reliable and valid in assessing the quality of life in Chinese patients with chronic constipation.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Chronic constipation; Rating scale; PRO; Quality of life

Jin X, Ding SQ, Ding YJ, Wang LL, Zhang H, Wang LW, Liu NN, Wang J, Cao JB. Validation and score

■同行评议者
刘宝林, 教授, 中国医科大学附属盛京医院

meaning of the Patient-Reported Outcome of Chronic Constipation rating scale. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(14): 1360-1365 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1360.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i14.1360

摘要

目的: 测定评价《慢性便秘PRO评估量表V2.0》(CC-PRO V2.0)的可行性、信度、效度和反应度, 判定量表分值意义.

方法: 对521例罗马Ⅲ标准诊断的慢性便秘患者和76例正常人群进行CC-PRO V2.0的评定. 521例患者需在纳入后24 h内填写量表. 2个疗程的程序化康复治疗后随机选取50例患者再次填写量表, 并与治疗前的测评结果比较, 同时从521例患者中随机选取30例在第一次测评72 h后重测量表.

结果: (1)量表接受率为92.1%, 完成率为97.4%, 完成时间为12.14 min±7.79 min; (2)内在信度: 除满意度指标的半分信度系数稍低于0.7外, 量表其他3个方面和总分的内在信度系数均>0.7; (3)重测信度: 量表总分和各维度得分的重测信度系数均>0.7; (4)内容效度: 量表维度与总表、各条目与总表、各条目与维度间的相关系数均>0.3; (5)结构效度: 量表数据进行因子分析, 累计方差贡献率为72.245%, 因子条目组成基本符合量表的理论构想; (6)反应度: 量表各条目、维度及总分在慢性便秘患者与正常人群间的差异均有统计学意义(P<0.05). (7)量表用于评估慢性便秘患者的生存质量, 分值意义包括: 基本正常: 总分≤88; 稍差: 88<总分≤121; 差: 121<总分≤160; 很差: 160<总分≤199; 极差: 总分>199.

结论: CC-PRO V2.0具有较好的可行性、信度、效度和反应度, 可用于中国慢性便秘患者生存质量的测定.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 慢性便秘; 量表; PRO; 生存质量

核心提示: 研制符合中国文化背景、反映中医药治疗有效作用点、关注患者生存质量的《慢性便秘PRO评估量表V2.0》(CC-PRO V2.0), 对量表的信度、效度和反应度进行科学性考评, 并判定量表分值意义.

金洵, 丁曙晴, 丁义江, 王玲玲, 张华, 王丽雯, 刘妮妮, 王静, 曹建葆. 慢性便秘患者报告临床结局评估量表的性能评价和分值意义判定. 世界华人消化杂志 2013; 21(14): 1360-1365 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1360.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i14.1360

0 引言

随着医学模式的改变, 综合评价患者主观感受、功能状态和生存质量的PRO(Patient-Reported Outcome)指标成为疗效评价的热点[1]. 本研究以患者为中心, 遵循PRO量表的制作指南(FDA 2009)[2], 在中医理论指导下建立病证结合的综合指标体系, 从生理、心理、社会和满意度4个方面观察慢性便秘患者的健康状况, 研制《慢性便秘PRO评估量表V2.0》(Patient-Reported Outcome of Chronic Constipation rating scale, CC-PRO V2.0)[3], 并对量表的性能和分值意义进行初步研究.

1 材料和方法

1.1 材料 (1)选取2010-10/2011-01就诊于南京市中医院肛肠科、沈阳市肛肠医院、厦门市中医院肛肠科和湖州市中医院肛肠科门诊及住院的慢性便秘患者划入便秘组. 纳入患者符合国际功能性胃肠疾病罗马Ⅲ标准[4,5], 经钡灌肠和结肠镜排除胃肠道器质性疾病, 经生化和甲状腺功能检查排除代谢性疾病, 排除神经系统疾病和药源性便秘. 共回收有效量表592份, 其中治疗前521份, 重测30份, 治疗后41份. 纳入的521例患者中, 男180例(34.5%), 女341例(65.5%); 年龄18-75岁, 平均47.21岁±15.37岁, 病程1-35年, 平均8.71年±8.25年; (2)南京社区的健康人群为正常组. 纳入正常人群不符合罗马Ⅲ功能性便秘的标准诊断, 无精神症状, 不处于重大躯体疾病急性期. 共回收量表76份, 其中男33例(43.4%), 女43例(56.6%); 年龄23-81岁, 平均46.37岁±10.57岁. 正常组与便秘组的性别、年龄等一般人口学资料无统计学差异(P>0.05).

1.2 方法 南京市中医院肛肠科组成专门的研究小组, 各有分工. 资料收集员为本院医生和专职护士, 经过认真培训, 熟悉量表问题, 对调查对象的提问无任何导向性. 研究小组对521例慢性便秘患者和76例正常人群进行慢性便秘PRO量表的评定. 521例慢性便秘患者需在纳入后24 h内填写量表. 2个疗程的程序化康复治疗后随机选取50例患者再次填写量表(有效问卷41份), 并与治疗前的测评结果比较, 同时从521例患者中随机选取30例在第一次测评72 h后重测量表.

CC-PRO V2.0为疾病专表, 用于慢性便秘患

■研发前沿

本研究以患者为中心, 遵循PRO量表的制作指南, 在中医理论指导下建立病证结合的综合指标体系. 因此软指标的筛选、设计、量化、赋权及考评等一系列过程是此文章研究领域中的关键问题和难点.

■创新盘点
本文测定评价自主研制设计的《慢性便秘PRO评估量表V2.0》(CC-PRO V2.0)的可行性、信度、效度和反应度, 用于判定中国便秘患者的生存质量, 反应中医药治疗该疾病的有效作用点, 并通过百分位法和ROC曲线判定量表分值意义.

者, 主要反映其健康状况和生存质量在时间上的变化, 属自评量表, 由患者报告临床结局[6]. 量表含32个条目, 由4个维度、7个方面构成. 4个维度包括: 生理维度(19条)、心理维度(9条)、社会维度(2条)和满意度(2条). 其中生理维度分为慢性便秘特有症状和证候效应指标2方面; 心理维度分为对疾病的调适、情绪和心境2方面; 满意度分为健康自我评价和治疗满意度2方面.

统计学处理 采用统计软件SPSS16.0进行数据分析, 考评CC-PRO V2.0的效度、信度和反应度. 比较方法为*t*检验、Pearson相关性分析、KMO检验和球形检验、探索性因子分析等, 计量资料以mean±SD表示, $P<0.05$表示差异有统计学意义, $P<0.01$表示差异有显著统计学意义[7].

2 结果

2.1 可行性 (1)量表接受率: 本量表共发放750份, 回收691份, 回收率为92.1%, 量表接受率较好; (2)量表完成率: 本量表共回收691份, 其中18份只填写一般资料或缺失条目达到无效问卷标准, 完成率为97.4%, 量表完成率较好; (3)量表完成时间: 本研究668次有效评定, 量表评定的平均时间为12.14 min±7.79 min, 91.9%的患者评定时间在20 min以内, 56.1%的患者评定时间在10 min以内, 量表完成时间较理想.

2.2 效度分析

2.2.1 内容效度: (1)本量表研究的维度设计来自于严密的理论构思和实践调查, 项目内容取自文献调查和半结构化深度访谈所获得的素材, 然后对素材整理分析, 通过患者和专家问卷, 初步获得量表评价的指标体系, 可反映慢性便秘患者的实际情况. 在此基础上实现条目量化, 并经专家审定量表内容及词语表达的准确性, 通过患者反复测试进行量表语言调适. 正式考评前研究小组对量表的结构和内容进行评估, 最后形成的条目具有较好的代表性. 因此从编制过程来看, 本量表研究方法和程序规范, 量表内容设置合理, 具有较高的内容效度; (2)条目与总表的相关系数为0.344-0.800, 条目与其所属维度的相关系数为0.289-0.973, 3个维度与总表的相关系数为0.599-0.889. 除11b与其维度的相关系数稍低外, 其余各条目与总表、条目与相关维度、各维度与总表的相关系数均在0.3以上, 具有较强的相关性.

2.2.2 结构效度: 使用探索性因子分析对所得数据分析, KMO统计量为0.852, 表明数据呈较好的线性. Bartlett球形检验$P = 0.000$, 拒绝无效假设, 提示变量间是相互关联的, 适宜做因子分析. 采用主成分极大方差旋转法对CC-PRO进行结构效度的探索性因子分析. 以特征值>1确定因子数目, 因子负荷>0.4为条目入选因子的条件, 结果共获得12个公因子, 其累计方差贡献率为72.245%.

经旋转后因子载荷, 12个公因子分别反映慢性便秘患者生存质量的不同侧面. 其中公因子2、公因子4、公因子7、公因子8和公因子10均为慢性便秘伴随的兼症, 可反映患者的整体状况, 属于证候效应指标, 故可合并; 公因子3、公因子6、公因子9和公因子11均为慢性便秘的主要症状, 属于慢性便秘特有症状, 故可合并; 公因子1和公因子5反映患者的情绪心境和便秘对生活的影响, 属于心理及社会维度; 公因子12属于满意度指标. 因此12个公因子可合并为5个大的方面, 分别为生理维度慢性便秘特有症状, 生理维度证候效应指标、心理维度、社会维度和满意度, 代表慢性便秘患者生存质量的5个领域(表1). 因子分析结果表明: 此结构与理论模型基本一致, 结构清晰, 具有较好的结构效度.

2.3 信度分析

2.3.1 内在信度: 除满意度指标的半分信度系数稍低于0.7外, 量表其他3个维度、总分的克朗巴哈α系数和分半信度系数均>0.7, 说明量表的内在信度较好, 具有较高的一致性.

2.3.2 重测信度: 将第一次测评与72 h后重测数据进行相关性比较, 量表总分、生理维度、心理维度、社会维度及满意度的相关系数分别为: 0.996、0.990、0.997、0.851、0.896, 两次测定的得分均值间差异无统计学意义($t = 0.937$, $P>0.05$), 说明量表测量的稳定性较好.

2.4 反应度分析

2.4.1 量表区分同一个体(或群体)随时间改变的能力: 采用配对*t*检验考察量表各条目、维度和总分随时间变化的能力, 统计分析结果显示: 满意度、6b、9b、12a、13b、14b、19b、20、27b和31治疗前后无统计学差异, 其余条目、维度及总分治疗前后显著改善(总分、生理维度慢性便秘特有症状、生理维度证候效应指标、心理维度和社会维度的*t*值分别为4.531、5.938、3.853、4.005和4.435, 均$P<0.01$), 说明量表可敏感反映患者治疗前后生存质量的变化.

2.4.2 量表区分不同人群的能力: 采用配对*t*检验考察量表各条目、维度和总分区分不同人群

表 1 CC-PRO V2.0各维度因子载荷

领域1 (慢性便秘特有症状)		领域2 (证候效应指标)		领域3 (心理维度)		领域4 (社会维度)		领域5 (满意度)	
条目	载荷	条目	载荷	条目	载荷	条目	载荷	条目	载荷
1a	0.808	5a	0.596	20	0.725	29	0.701	31	0.750
1b	0.714	5b	0.562	21	0.727	30	0.702	32a	0.713
2a	0.428	11b	0.744	22	0.756			32b	0.678
3a	0.741	11a	0.733	23	0.680				
3b	0.738	12a	0.895	24	0.632				
4a	0.775	12b	0.902	25a	0.595				
4b	0.770	13b	0.697	25b	0.600				
6a	0.651	14b	0.675	26a	0.583				
6b	0.644	15a	0.842	26b	0.610				
7	0.574	15b	0.847	27a	0.700				
8a	0.686	16a	0.777	27b	0.695				
9a	0.750	16b	0.765						
9b	0.647	17b	0.410						
10a	0.815	18a	0.787						
10b	0.802	18b	0.773						
28	0.607	19a	0.833						
		19b	0.811						

表 2 CC-PRO V2.0分值对患者生存质量的判定意义

	生存质量				
	基本正常	稍差	差	很差	极差
总分范围	X≤88	88<X≤121	121<X≤160	160<X≤199	>199

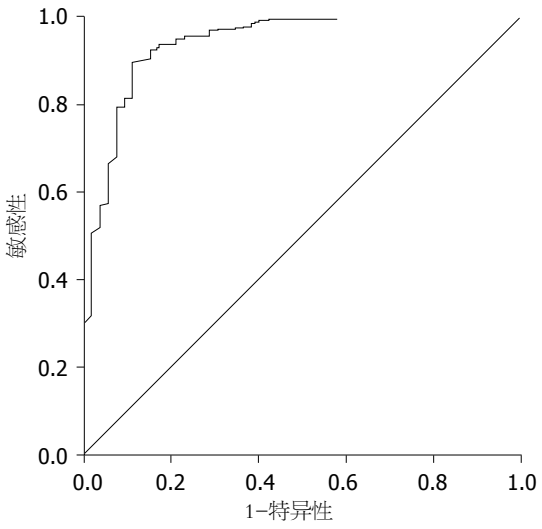


图 1 正常人群与慢性便秘患者ROC曲线.

的能力, 统计分析结果显示: 量表各条目、维度及总分在慢性便秘患者与正常人群间的差异均有统计学意义(总分、生理维度慢性便秘特有症状、生理维度证候效应指标、心理维度、社会维度和满意度的t值分别为13.358、16.733、5.449、6.520、7.147和4.131, 均P<0.01). 该量表反应度较好, 条目内容对慢性便秘患者具有针对性.

2.5 量表分值意义判定 根据CC-PRO V2.0得分, 绘制正常人群和慢性便秘患者的ROC曲线(图1), 曲线下面积为0.941, 用于判定正常人群和慢性便秘患者生存质量有统计学意义(P = 0.000), ROC曲线对应的敏感性、特异性和约登指数分别为0.895、0.885和0.780, 划界分为88. 由于缺少慢性便秘患者生存质量分级标准, 故其分值意义判定采用百分位法, P25、P50和P75对应的值分别为121、160和199, 由此判定CC-PRO V2.0分值意义(表2).

3 讨论

CC-PRO V2.0针对慢性便秘患者设计, 研究表明本量表内容适合慢性便秘患者. 量表接受率为92.1%, 其中18份只填写一般资料或缺失条目达到无效问卷标准, 完成率为97.4%, 超过一般量

■应用要点

CC-PRO V2.0可判定中国便秘患者的生存质量, 反应中医药治疗该疾病的有效作用点. 进一步研究需制定量表全国常模, 并开发不同语言版本.

■名词解释
患者报告临床结局: 由患者报告反映其健康状况的临床结局指标, 所有信息均直接来源于患者, 而不受临床医生和研究者的影响.

表规定的85%的要求. 量表完成时间为12.14 min±7.79 min, 91.9%的患者评定时间在20 min以内, 56.1%患者评定时间在10 min以内, 亦控制在一般量表要求的完成时间内.

本研究对CC-PRO V2.0在中国慢性便秘患者中的应用进行信度评价, 本研究结果显示: (1)除满意度指标的半分信度系数稍低于0.7外, 量表其他3个方面和总分的内在信度系数均>0.7, 说明量表条目间有较高的一致性. 满意度指标半分信度系数偏低的原因考虑为: 满意度指标包括健康状况自我评价和对所行治疗的满意度2个方面, 部分患者治疗后症状有显著改善, 但仍未达到理想状态, 因此患者对目前健康状况的满意度和对治疗满意度的变化未必同步, 且满意度领域条目数较少. 因此满意度领域条目间的一致性较其他领域差; (2)第一次测评与72 h后重测的量表总分及生理维度、心理维度、社会维度、满意度得分的相关系数分别为: 0.996、0.990、0.997、0.851、0.896, 说明量表两次测评结果稳定一致, 具有较好的重测信度.

结构效度反映量表的内在属性, 通常被认为是最强有力的效度评价[8,9]. 本研究结果显示: (1)本量表在广泛参考国内外相关量表结构及量表制定方法和原则的基础上, 由相关方面专家参与选题讨论, 建立条目池, 然后进行条目筛选、专家评议、量表试测、条目再筛选、语言调适等一系列程序化研究, 形成正式量表; (2)研究对维度与总表、各条目与总表、各条目与维度间的得分进行相关性分析, 结果显示维度与总表的相关系数为0.599-0.992, 各条目与总表的相关系数为0.344-0.800, 各条目与维度间的相关系数为0.363-0.973. 以上数据提示: 该量表维度与总表、条目与总表、条目与维度间均有较强的相关性; (3)量表数据进行因子分析, 以特征值>1确定因子数目, 因子负荷>0.4为条目入选因子的条件, 结果共获得12个公因子, 分别反映慢性便秘患者生存质量的不同侧面, 其累计方差贡献率为72.245%. 结合临床实际情况, 将反映内容相似的公因子合并, 最终得到5个领域. 量表因子条目组成基本符合量表的理论构想, 量表结构效度较好.

反应度指一份量表具有检测患者病情细微的、有临床意义的、随时间改变的能力[10]. 通常从2个领域考察量表的反应度: (1)用CC-PRO V2.0对正常人群与慢性便秘患者的各条目、维度及总分进行*t*检验, 结果显示: 两者比较差异均有统计学意义(P<0.05). 说明量表具有区分正常人群和慢性便秘患者生存质量的能力, 条目内容对慢性便秘患者具有针对性, 同时也说明慢性便秘是典型的身心疾病[11], 其对患者的生理功能、心理状态和社会关系均有严重损害; (2)用该量表对慢性便秘患者程序化康复治疗前后的得分进行比较, *t*检验结果显示: 除满意度外, 两次评测的量表生理维度、心理维度、社会维度和总分间的差异有显著性统计学意义(P<0.01), 即量表具有区分同一个体随时间改变的能力. 满意度指标中患者对目前健康状况的满意度P值偏高(P = 0.070), 原因考虑为部分患者治疗后症状虽有显著改善, 但总体健康状况和生存质量很难恢复到疾病前的正常状态[12], 有必要进一步治疗或实施慢病管理[13].

ROC曲线广泛用于医学诊断试验的性能评价[14], 其通过改变诊断界点, 获得多对真阳性率(true positive rate, TPR)和假阳性率(false positive rate, FPR), 以FPR为横坐标, TPR为纵坐标, 绘制ROC曲线, 计算和比较曲线下面积, 以此反映诊断性试验的诊断价值[15]. 1995年美国国家临床实验室标准化委员会(NCCLS)正式批准“应用ROC曲线图评价实验室检验项目的临床准确性指导原则”. ROC曲线已成为循证检验医学必不可少的应用方法[16], 是一种全面、准确评价诊断性试的有效工具, 其更重要的功能是确定诊断性试验的最佳临界值和可疑值范围. 根据CC-PRO V2.0得分, 绘制正常人群和慢性便秘患者的ROC曲线, 研究发现: 正常人群与慢性便秘患者量表评估的划界分为88分, 其敏感性和特异性分别为0.895和0.885, 曲线下面积为0.941. 需注意的是, CC-PRO V2.0的划界分只是用于评估患者生存质量的优劣, 而不是于诊断慢性便秘. 由于缺少慢性便秘患者生存质量的分级标准, 故采用百分法(P25、P50和P75)实现CC-PRO评分的进一步分级.

CC-PRO V2.0进一步研究需制定量表全国常模, 并开发不同语言版本. CC-PRO V2.0只是“慢性便秘诊疗标准化研究”的一部分, 诊疗标准化研究包括诊断、治疗和疗效评估3部分. 研究诊疗规范和量化, 并在信息管理的基础上, 实现标准化, 进一步完善慢性便秘诊疗指南和临床路径.

4 参考文献

1 刘保延. 患者报告结局的测量–原理方法与应用. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 1-3
2 U.S. Department of Health and Human Services

FDA Center for Drug Evaluation and Research; U.S. Department of Health and Human Services FDA Center for Biologics Evaluation and Research; U.S. Department of Health and Human Services FDA Center for Devices and Radiological Health. Guidance for industry: patient-reported outcome measures: use in medical product development to support labeling claims: draft guidance. *Health Qual Life Outcomes* 2006; 4: 79 [PMID: 17034633 DOI: 10.1186/1477-7525-4-79]

3 金洵, 丁义江, 丁曙晴, 王玲玲, 倪敏, 张华, 王丽雯, 刘妮妮, 王静. 慢性便秘患者报告临床结局评估量表条目池的建立和筛选. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2855-2859

4 Longstreth GF, Thompson WG, Chey WD, Houghton LA, Mearin F, Spiller RC. Functional bowel disorders. *Gastroenterology* 2006; 130: 1480-1491 [PMID: 16678561 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.11.061]

5 Thompson WG, Longstreth GF, Drossman DA, Heaton KW, Irvine EJ, Müller-Lissner SA. Functional bowel disorders and functional abdominal pain. *Gut* 1999; 45 Suppl 2: II43-II47 [PMID: 10457044]

6 金洵, 丁义江, 丁曙晴, 王玲玲. 慢性便秘患者报告临床结局评估量表设计思路. 辽宁中医药大学学报 2013; 15: 102-105

7 解亚宁. 心理统计学. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 282-321

8 马文军, 潘波. 问卷的信度和效度以及如何用SAS软件分析. 中国卫生统计 2000; 12: 364-365

9 Hays RD, Anderson R, Revicki D. Psychometric considerations in evaluating health-related quality of life measures. *Qual Life Res* 1993; 2: 441-449 [PMID: 8161978]

10 方积乾. 医学统计学与电脑实验. 第4版. 上海: 上海科学技术出版社, 2012: 240-247

11 吴嘉媛, 刘晓红, 刘巍, 柯美云, 方秀才, 赵洪川, 张玫, 谢鹏雁, 郝建宇, 徐欣萍, 钱冬梅, 徐宝宏, 蓝宇, 龙峻标. 慢性便秘患者精神心理状况及生活质量调查-多中心临床调查. 中国实用内科杂志 2009; 29: 237-239

12 金洵, 丁义江, 王玲玲, 丁曙晴, 舒琳, 蒋亚文, 霍维宇. 针刺治疗慢性功能性便秘疗效观察. 中国针灸 2010; 30: 97-101

13 赵欣. 慢病管理的现状与发展方向. 中国临床医生 2012; 40: 42-44

14 王敬瀚. ROC曲线在临床医学诊断实验中的应用. 中华高血压杂志 2008; 16: 175-177

15 孙振球. 医学统计学. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 140-160

16 刘萍, 刘关键. 循证检验与诊断. 上海医学检验杂志 2003; 18: 187-191

■同行评价

本文选题接近临床实践, 有自主研究设计及结果对未来临床实践有指导意义, 研究形式便于临床施行有较好的可操作性.

编辑 田滢 电编 闫晋利

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

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873

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

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

世界华人消化杂志 2013年5月18日; 21(14): 1366-1371
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

含呋喃唑酮四联一线方案初治幽门螺杆菌的临床观察

陈 伟, 张桂英, 曾 亚, 李 乾, 徐美华, 刘 霆

■背景资料
全球半数人口存在幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染, 现已公认, *H. pylori*与消化性溃疡、B细胞淋巴瘤及胃癌等多种疾病密切相关, 且被列为Ⅰ类致癌因子, 传统的标准三联疗法治疗, *H. pylori*根除率不断下降, 因此有必要寻求根除率更高的一线治疗方案.

陈伟, 曾亚, 湖南省长沙市中心医院消化内科 湖南省长沙市 410004
张桂英, 李乾, 徐美华, 刘霆, 中南大学湘雅医院消化内科 湖南省长沙市 410008
陈伟, 硕士, 主要从事幽门螺杆菌的研究.
作者贡献分布: 此课题由张桂英与陈伟设计; 研究过程病例收集由陈伟、曾亚、李乾、徐美华及刘霆共同完成; 数据处理与论文写作由张桂英指导, 陈伟完成.
通讯作者: 张桂英, 教授, 主任医师, 博士生导师, 410008, 湖南省长沙市湘雅路87号, 中南大学湘雅医院消化内科.
guiyingzhang@hotmail.com
收稿日期: 2013-02-27 修回日期: 2013-03-20
接受日期: 2013-04-18 在线出版日期: 2013-05-18

Furazolidone-based quadruple therapy as first-line treatment for *Helicobacter pylori* infection

Wei Chen, Gui-Ying Zhang, Ya Zeng, Qian Li, Mei-Hua Xu, Ting Liu

Wei Chen, Ya Zeng, Department of Gastroenterology, Changsha Central Hospital, Changsha 410004, Hunan Province, China
Gui-Ying Zhang, Qian Li, Mei-Hua Xu, Ting Liu, Department of Gastroenterology, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, Hunan Province, China
Correspondence to: Gui-Ying Zhang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Xiang-Ya Hospital, Central South University, 87 Xiangya Road, Changsha 410008, Hunan Province, China. guiyingzhang@hotmail.com
Received: 2013-02-27 Revised: 2013-03-20
Accepted: 2013-04-18 Published online: 2013-05-18

Abstract

AIM: To observe the rates of symptom remission, adverse reactions, and *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) eradication of furazolidone-based quadruple therapy as first-line treatment for patients with *H. pylori* infection.

METHODS: One hundred and fifty-two patients who were diagnosed with *H. pylori*-positive chronic gastritis or duodenal ulcer were randomly divided into three groups: control group (esomeprazole + bismuth potassium citrate + amoxicillin + clarithromycin), 7-day furazolidone-based quadruple therapy group (esomeprazole + bismuth potassium citrate + amoxicillin + furazolidone), and 10-day furazolidone-based quadruple therapy group (esomeprazole + bismuth potassium citrate + amoxicillin + furazolidone). Patients were followed to observe symptom remission and adverse reactions. After at least 4 wk of treatment and 2 wk of non-use of PPIs, *H. pylori* status was assessed using the urea breath test. *H. pylori* eradication rate was assessed by PP and ITT analysis. Cost-effectiveness ratio and incremental cost-effectiveness ratio were used to evaluate the three treatments.

RESULTS: On PP analysis, the rates of *H. pylori* eradication in the three groups were 87.50%, 88.89% and 93.62%. On ITT analysis, the rates of *H. pylori* eradication in the three groups were 79.25%, 83.33% and 86.27%. There were no significant differences in the rates of *H. pylori* eradication among the three groups either on PP analysis or on ITT analysis. The rates of symptom remission and adverse reactions in the three groups also showed no significant difference (all $P > 0.05$). The cost-effectiveness ratios of the three groups were 3.69, 2.48 and 3.37. The incremental cost-effectiveness ratios of the 7-day and 10-day furazolidone-based quadruple therapy groups relative to the control group were -73.22 and -1.17.

CONCLUSION: Furazolidone-based quadruple therapy is associated with a high rate of *H. pylori* eradication and few slight side effects and can reduce the costs of quadruple treatment.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Quadruple therapy; Eradication; Furazolidone

Chen W, Zhang GY, Zeng Y, Li Q, Xu MH, Liu T. Furazolidone-based quadruple therapy as first-line treatment for *Helicobacter pylori* infection. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(14): 1366-1371 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1366.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i14.1366

摘要

目的: 观察含呋喃唑酮的四联7 d及10 d疗法, 一线治疗幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H.*

■同行评议者
白爱平, 副教授, 江西省南昌大学第一附属医院消化病研究所; 关玉盘, 教授, 北京市首都医科大学附属北京朝阳医院消化科

pylori)阳性的慢性胃炎及十二指肠球部溃疡, 旨在寻求*H. pylori*根除治疗的理想方案, 为临床提供一个*H. pylori*根除率较高且费用较低的治疗方案.

方法: (1)152例*H. pylori*阳性的慢性胃炎或十二指肠球部溃疡患者, 随机分成对照组(埃索美拉唑+丽珠得乐+阿莫西林+克拉霉素缓释片)、含呋喃唑酮四联7 d组(埃索美拉唑+丽珠得乐+阿莫西林+呋喃唑酮)及10 d组(埃索美拉唑+丽珠得乐+阿莫西林+呋喃唑酮); (2)随诊并记录患者症状缓解情况和药物不良反应, 了解患者依从性及耐受性, *H. pylori*根除治疗结束后至少4 wk, 停用PPI至少2 wk后进行尿素呼气试验; (3)根除率采用ITT分析和PP分析, 计算成本-效果比值和增量成本-效果比值评价比较3种方案.

结果: *H. pylori*根除率按PP分析及ITT分析: 对照组为87.50%及79.25%, 四联7 d组为88.89%及83.33%, 四联10 d组为93.62%及86.27%; 3组间根除率无显著差异. 3组间症状缓解情况比较无显著差异. 3组间不良反应发生率比较无显著差异. 对照组、四联7 d组和四联10 d组的成本-效果比分别为3.69、2.48和3.37, 四联7 d组与四联10 d组相对于对照组的增量成本-效果比值分别为-73.2和-1.17.

结论: 含呋喃唑酮的四联7 d及10 d方案均具有较高的*H. pylori*根除率, 不良反应少而轻微, 降低了四联方案的成本, 两种方案均为安全、有效、经济的一线治疗方案, 符合我国国情, 值得临床推广.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 幽门螺杆菌; 四联; 根除率; 呋喃唑酮

核心提示: 含呋喃唑酮四联方案作为一线根治幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*)方案, 其疗效较高, 耐药率低, 价格低, 符合我国国情, 值得临床推广.

陈伟, 张桂英, 曾亚, 李乾, 徐美华, 刘霆. 含呋喃唑酮四联一线方案初治幽门螺杆菌的临床观察. 世界华人消化杂志 2013; 21(14): 1366-1371 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1366.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i14.1366

0 引言

现已公认, 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)与慢性胃炎、消化性溃疡、黏膜相关淋巴组织B细胞淋巴瘤和胃癌密切相关; 此外, *H. pylori*还与不明原因缺铁性贫血、特发性血小板减少性紫癜(idiopathic thrombocytopenic purpura, ITP)[1,2]等相关. 1994年世界卫生组织(world health organization, WHO)将*H. pylori*列为Ⅰ类致癌因子[3]. 全球半数人口存在*H. pylori*感染, 我国也是*H. pylori*高感染率国家[4]. 鉴于*H. pylori*的高感染率及与多系统疾病的相关性, *H. pylori*感染治疗一直是*H. pylori*研究领域的热点和重点. 目前*H. pylori*根除方案很多, 以PPI为基础的标准三联一线疗法(PPI+克拉霉素+阿莫西林/甲硝唑)随着时间的推移, *H. pylori*的耐药率不断增加, 其根除率在世界范围内不断的下降[5,6]. 鉴于首次根除治疗失败可能会给再次治疗带来困难且增加治疗费用, 且近年来国内外学者认为最好的补救治疗措施是对初次治疗时选择疗效好的*H. pylori*根除方案, 使初次治疗获得成功, 以免继发耐药, 中国2007年庐山共识[7]及欧洲Maastricht Ⅲ共识意见[8]均建议将含铋剂的四联疗法用于一线治疗. 本研究选择耐药率低且价格低廉的呋喃唑酮(标准剂量)联合阿莫西林、埃索美拉唑和枸橼酸铋钾组成四联一线治疗方案根除*H. pylori*并观察其临床疗效.

■研发前沿
目前, 国内外均推荐的首选一线治疗方案是以PPI为基础的标准三联疗法. 但随着时间的推移, *H. pylori*的耐药率不断增加, 因此近年来国内外学者认为可采取避免使用耐药率高的抗生素、使用四联根除方案等措施, 来治疗*H. pylori*感染.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2011-03/2012-02在中南大学湘雅医院152例符合纳入标准的患者为研究对象. 病例入选标准: (1)年龄18-70岁; (2)*H. pylori*阳性的慢性胃炎或无并发症的十二指肠球部溃疡患者; (3)所有入选者的诊断都必须通过胃镜检查获得; (4)根据我国2007年庐山共识诊断标准胃镜下黏膜组织快速尿素酶、组织切片染色或碳呼气试验阳性, 三者任其一阳性者; (5)既往未接受过正规的*H. pylori*根除治疗; (6)征得患者的知情同意. 排除标准: (1)治疗前4 wk使用过抗生素、铋剂或者治疗前2 wk使用过H2RA和PPI者; (2)妊娠或哺乳期的妇女; (3)患者同时存在其他影响本研究评价的严重疾病, 如肝脏疾病、肾脏疾病、恶性肿瘤等; (4)对本研究药物过敏者; (5)前3 mo参与过其他药物研究者; (6)患者不能正确表达主诉及不能合作本试验者, 如精神病或严重神经官能症等. 按随机数表法, 将病例分成对照组、含呋喃唑酮四联7 d组及10 d组, 对照组方案入选53例, 失访+剔除5例, 完成治疗48例; 四联7 d组方案入选48例, 失访+剔除3例, 完成治疗45例; 四联10 d组方案入选51例, 失访+剔除4例, 完成治疗47例, 剔除及失访患者占总体7.89%.

■相关报道
国外学者Datta及Fallahi等分别通过体外及体内试验证实了呋喃唑酮不仅具有较强的杀灭*H. pylori*的作用, 而且不易产生耐药性.

表 1 3组患者年龄比较

分组	*n*	平均年龄(岁)	*F*值	*P*值
对照组	53	41.74 ± 10.50		
四联7 d组	48	40.50 ± 10.93	0.182	0.833
四联10 d组	51	41.45 ± 10.61		
总数	152	41.25 ± 10.62		

1.2 方法

1.2.1 快速尿素酶试验: 经胃镜在胃窦取新鲜活检胃黏膜, 用牙签或洁净镊子置入微孔药条的药液内, 在10 ℃-30 ℃条件下孵育3 min后观察结果. 衬白纸在自然光线下或40 W日光灯下采用目测法观察各孔内胃黏膜组织边缘药液颜色变化. 1阴性: 黏膜样品孔颜色无显色反应. 2阳性: 黏膜样品孔颜色呈红色-紫红色.

1.2.2 组织病理学检测: 经胃镜同时在胃窦和胃体取至少两块标本, 送病理科将胃黏膜活检组织标本固定、脱水后用常规石腊包埋、切片染色, *H. pylori* (+)为*H. pylori*感染.

1.2.3 尿素呼气实验: 收集患者服用尿素胶囊后呼出气体插入检测仪器, 仪器自动检测、显示并打印结果. 诊断结果分为阴性(-)、阳性(+).

1.2.4 各组*H. pylori*根除治疗方案: 对照组: 埃索美拉唑(20 mg)+丽珠得乐(220 mg)+阿莫西林(1000 mg)+克拉霉素缓释片(500 mg), bid×7 d; 四联7 d组: 埃索美拉唑(20 mg)+丽珠得乐(220 mg)+阿莫西林(1000 mg)+呋喃唑酮(100 mg), bid×7 d; 四联10 d组: 埃索美拉唑(20 mg)+丽珠得乐(220 mg)+阿莫西林(1000 mg)+呋喃唑酮(100 mg), bid×10 d.

1.2.5 胃肠道症状评分: 慢性胃炎患者对上腹胀、嗳气、上腹痛、纳差4项症状的严重程度及严重频度评分, 十二指肠球部溃疡患者对腹痛、烧灼感、反酸、恶心呕吐、嗳气及腹胀6项症状的严重程度评分, 根据积分变化率进行三级疗效评估标准[9]: 显效: 临床症状消失或基本消失; 有效: 临床症状有所改善或明显减轻, 积分减少50%以上; 无效: 临床症状无改善或加重, 积分减少不足50%; 总有效率 = 显效率+有效率.

1.2.6 药物不良反应: 按“药物临床试验管理规范”要求进行观察, 记录患者服药期间出现的不良反应并评价描述其以下特征: 类型、发生时间、持续时间、程度、频度、是否需要治疗、对用药的影响、与用药的关系及结局. 指导患者对各种不良反应采取相应的措施.

1.2.7 *H. pylori*根除效果: 治疗结束后停药PPI至少2 wk, 停药抗生素至少4 wk后复查尿素呼气试验(^{13}C或^{14}C-UBT), 阴性者判断为*H. pylori*根除, 阳性者判断为*H. pylori*根除失败.

1.2.8 成本-效果分析: 计算成本-效果比(C/E)及增量成本-效果比△C/△E = (C1-C2)/(E1-E2), 其中成本C = 每位患者对应方案的总药品费用, 效果E = *H. pylori*根除率(PP分析)作为3种治疗方案的效果衡量标准.

统计学处理 统计分析采用SPSS17.0软件完成统计分析. 定性资料采用百分数表示, 比较采用χ^2检验, 不符合χ^2检验条件的用*F*确切概率法; 定量资料的比较采用多个样本均数比较的方差分析(ANOVA检验), $P<0.05$将认为所检验的差别有统计学意义.

2 结果

2.1 一般情况 3组患者一般情况差异比较无统计学意义(表1, 2).

2.2 患者症状缓解情况 完成研究的140例患者中, 总有效率为77.86%. 对照组48例完成患者, 总有效率为75%; 四联7 d组45例完成患者, 总有效率为77.78%; 四联10 d组47例完成患者, 总有效率为80.85%. 3组患者症状缓解情况的比较无显著差异($P>0.05$, 表3).

2.3 3组方案*H. pylori*根除率 按PP分析, 对照组、四联7 d组和四联10 d组*H. pylori*根除率分别为87.50%、 88.89%、93.62%. 按ITT分析, 对照组、四联7 d组和四联10 d组*H. pylori*根除率为79.25%、83.33%、86.27%. 3组间根除率无论是PP分析还是ITT分析, 均无显著差异(表4).

2.4 3组方案不同疾病根除率比较 对照组、四联7 d组及四联10 d组对溃疡患者*H. pylori*根除率分别为92.59%、92.30%、96.30%; 对胃炎患者*H. pylori*根除率分别为80.95%、84.21%、90.00%. 3组间十二指肠球部溃疡患者*H. pylori*根除率比较, $\chi^2 = 0.45$, $P = 0.87>0.05$; 3组间慢性胃炎患者*H. pylori*根除率比较, $\chi^2 = 0.67$, $P =$

表 2 3组患者性别比较、吸烟及饮酒 (*n*)

患者特征	对照组	四联7 d组	四联10 d组	χ^2值	*P*值
病例总数	53	48	51		
性别				0.003	1.00
男	33	30	32		
女	20	18	19		
吸烟				0.65	0.74
是	12	9	13		
否	41	39	38		
饮酒				0.39	0.86
是	10	11	12		
否	43	37	39		

表 3 3组患者症状缓解比较 (*n*)

分组	显效	有效	无效	χ^2值	*P*值
对照组	24	12	12		
四联7 d组	22	13	10	0.47	0.79
四联10 d组	24	14	9		
总数	70	39	31		

表 4 3组方案幽门螺杆菌根除率分析比较 *N*(%)

分析方法	对照组	四联7 d组	四联10 d组	χ^2值	*P*值
PP	42/48(87.50)	40/45(88.89)	44/47(93.62)	1.08	0.60
ITT	42/53(79.25)	40/48(83.33)	44/51(86.27)	0.92	0.64

■创新盘点

目前关于含呋喃唑酮四联疗法初治*H. pylori*报道较少, 本文通过对不同四联疗法进行对比, 表明了含呋喃唑酮四联疗法是一种安全、有效、经济的一线治疗方案.

0.82>0.05; 均无显著差异(表5).

2.5 药物不良反应发生率 3组患者共有14例患者出现不良反应, 主要表现为头晕、腹泻、腹胀、口苦、呃逆等, 症状均较轻微并可忍受或自行缓解, 没有因不良反应严重不能耐受而退出者. 3组患者不良反应发生率比较χ^2 = 1.25, *P* = 0.54>0.05, 无显著差异(表6).

2.6 3组方案成本-效果分析 对照组、四联7 d组及四联10 d组成本分别为322.5元、220.73元和315.32元. 成本效果比值以四联7 d组最小, 对照组最大; 四联7 d组和四联10 d组相对对照组增量比分别为-73.22和-1.17(表7).

3 讨论

一个理想的*H. pylori*根除方案是[10,11]: (1)联合用药、疗程为7-10 d; (2)*H. pylori*根除率>90%; (3)无严重的不良反应, 依从性好; (4)耐药发生率低; (5)价格低廉. 中国及欧洲均推荐了防止继发耐药, 提高*H. pylori*根除率, 建议四联疗法可用于一线治疗. 国际上公认的标准四联疗法为“PPI+铋剂+甲硝唑+四环素”, 但是在我国甲硝唑的耐药率高, 四环素不良反应较大, 国内徐美华等[12]则在标准的三联疗法中加用铋剂组成“PPI+铋剂+阿莫西林+克拉霉素”四联一线方案, 对*H. pylori*感染初治患者进行观察, 其*H. pylori*根除率ITT分析为82.09%, PP分析为88.71%, 但*H. pylori*对克拉霉素的耐药性逐渐增加且国内克拉霉素价格较高, 增加了患者的负担. 虽然这些方案根除率未达到理想方案的要求, 但都为含铋剂的四联疗法用于一线治疗提供了理论依据. 呋喃唑酮是一种合成抗生素, 属于硝基呋喃类抗菌药, 通过干扰细菌的氧化还原酶, 抑制乙酰辅酶A等多种酶而干扰细菌的核糖蛋白及其他大分子蛋白, 导致细菌代谢紊乱并损伤DNA, 从而阻断细菌的正常代谢. 我国70年代就应用呋喃唑酮治疗消化性溃疡取得良好疗效, 并发现溃疡病复发率明显降低, 以后证实其杀灭*H. pylori*的作用并用于抗*H. pylori*的二线或补

■应用要点
呋喃唑酮价格低廉, 具有较强的杀灭*H. pylori*的作用, 且不易产生耐药, 为临床提供了一种根除率高且费用低的一线治疗方案. 但该方案广泛应用于临床还需进一步大样本的临床研究.

表 5 3组方案不同疾病根除率比较

分组	十二指肠球部溃疡			慢性胃炎		
	总人数	*H. pylori*根除数	根除率(%)	总人数	*H. pylori*根除数	根除率(%)
对照组	27	25	92.59	21	17	80.95
四联7 d组	26	24	92.30	19	16	84.21
四联10 d组	27	26	96.30	20	18	90.00

表 6 3组患者不良反应发生率比较 (*n*)

分组	合计	有不良反应	无不良反应	发生率(%)	χ^2值	*P*值
对照组	48	5	43	10.42		
四联7 d组	45	6	39	13.33	1.25	0.54
四联10 d组	47	3	44	6.38		
合计	140	14	126	10.00		

表 7 3组方案成本–效果分析

分组	成本(元, C)	效果(%, E)	C/E比值	△C/△E
四联10 d组	315.32	93.62	3.37	–1.17
四联7 d组	220.73	88.89	2.48	–73.22
对照组	322.50	87.50	3.69	–

救治疗, 而含呋喃唑酮的四联方案将其作为一线根除治疗方案的研究报道目前还较少.

本研究选择耐药率低且价格低廉的呋喃唑酮(标准剂量)联合阿莫西林、埃索美拉唑和枸橼酸铋钾组成四联一线初疗方案根除*H. pylori*, 结果显示3组临床症状缓解率及不良反应发生率在统计学上无明显差异, 未出现呋喃唑酮所致的多发性神经炎等严重不能耐受的不良反应. 临床上只有当剂量过大或服用时间过长, 剂量超过1 d 0.6 g或总量超过4 g才容易引起多发性神经炎等严重不良反应[13], 因此本研究中含呋喃唑酮的四联方案中呋喃唑酮剂量为0.2 g/d, 总量为1.4 g或2.0 g是相对比较安全的. 对照组的根除率低于含呋喃唑酮四联7 d组及10 d组; 而四联7 d组的根除率低于10 d组; 但是四联10 d组, 无论是对十二指肠球部溃疡还是慢性胃炎的根除效果都达到了90%, 不良反应未见明显增加且价格低廉, 这些均达到了理想方案的要求. 这可能与呋喃唑酮不仅具有较强的杀灭*H. pylori*的作用, 而且不易产生耐药性, 近年来呋喃唑酮耐药性的体外及体内试验均证实了这一点[14,15].

我国属于发展中国家, 仍然有相当范围的经济落后地区, 治疗费用是一个不可忽视的实际问题. 成本-效果比值越低, 表明产生一份效果所需的成本越低, 该方案的实施就越有意义; 增量成本-效果比值越低, 表明方案产生-增量效果所需的增量成本越低, 方案实际意义越大[16]. 本研究结果显示对照组、四联7 d组和四联10 d组的成本-效果比分别为3.69、2.48和3.37, 四联7 d组的比值最低, 所需成本最低, 其次是四联10 d组, 对照组最高, 所需成本最高; 四联7 d组相对于对照组的增量成本-效果比值为-73.22, 四联7 d组相对对照组增加1%效果, 成本降低73.22元; 四联10 d组相对于对照组组的增量成本-效果比值为-1.17, 四联10 d组相对对照组增加1%效果, 成本降低1.17元. 表明小剂量的呋喃唑酮替代克拉霉素的四联疗法, 不但能取得相似甚至提高根除率, 而且还能降低费用.

总之, 含呋喃唑酮的四联7 d及10 d方案均具有较高的*H. pylori*根除率, 不良反应少而轻微, 降低了四联方案的成本, 两种方案均为安全、有效、经济的一线治疗方案, 符合我国国情, 值得临床推广.

4 参考文献

1 Veneri D, Krampera M, Franchini M. High prevalence of sustained remission of idiopathic thrombo-

cytopenic purpura after Helicobacter pylori eradication: a long-term follow-up study. *Platelets* 2005; 16: 117-119 [PMID: 15823868]
2 Inaba T, Mizuno M, Take S, Suwaki K, Honda T, Kawai K, Fujita M, Tamura T, Yokota K, Oguma K, Okada H, Shiratori Y. Eradication of Helicobacter pylori increases platelet count in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura in Japan. *Eur J Clin Invest* 2005; 35: 214-219 [PMID: 15733077 DOI: 10.1111/j.1365-2362.0147.x]
3 Schistosomes, liver flukes and Helicobacter pylori. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon, 7-14 June 1994. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum* 1994; 61: 1-241 [PMID: 7715068]
4 胡伏莲. 幽门螺杆菌感染相关疾病–幽门螺杆菌感染的流行病学. 中国医刊 2007; 42: 17-18
5 Laine L, Fennerty MB, Osato M, Sugg J, Suchower L, Probst P, Levine JG. Esomeprazole-based Helicobacter pylori eradication therapy and the effect of antibiotic resistance: results of three US multicenter, double-blind trials. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 3393-3398 [PMID: 11151867 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2000.03349.x]
6 Vakil N, Lanza F, Schwartz H, Barth J. Seven-day therapy for Helicobacter pylori in the United States. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20: 99-107 [PMID: 15225176 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2004.02029.x]
7 第三次全国幽门螺杆菌感染若干问题共识报告(2007年8月庐山). 中华医学杂志 2008; 88: 652-656
8 Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C, Bazzoli F, El-Omar E, Graham D, Hunt R, Rokkas T, Vakil N, Kuipers EJ. Current concepts in the management of Helicobacter pylori infection: the Maastricht III Consensus Report. *Gut* 2007; 56: 772-781 [PMID: 17170018 DOI: 10.1136/gut.2006.101634]
9 张翠萍, 孙学国,赵清喜,张琪,孔心娟. 替普瑞酮治疗慢性萎缩性胃炎100例. 世界华人消化杂志 2008; 16: 1069-1073
10 胡伏莲. 《幽门螺杆菌感染若干问题共识意见》解读. 中国医刊 2007; 42: 4-6
11 周殿元, 张万岱, 王继德, 徐克强. 关于幽门螺杆菌若干问题的意见(草案). 现代消化病及内镜杂志 1997; 2: 101-102
12 徐美华, 张桂英, 李常娟. 含铋剂四联一线治疗方案根除幽门螺杆菌疗效观察. 浙江大学学报(医学版) 2011; 40: 327-331
13 余琳玲, 陈洁芳, 黄跃金. 呋喃唑酮致多发性神经病36例临床分析. 海峡药学 2009; 21: 232-232
14 Datta S, Chattopadhyay S, Patra R, De R, Ramamurthy T, Hembram J, Chowdhury A, Bhattacharya SK, Berg DE, Nair GB, Mukhopadhyay AK. Most Helicobacter pylori strains of Kolkata in India are resistant to metronidazole but susceptible to other drugs commonly used for eradication and ulcer therapy. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 22: 51-57 [PMID: 15963080 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2005.02533.x]
15 Fallahi GH, Maleknejad S. Helicobacter pylori culture and antimicrobial resistance in Iran. *Indian J Pediatr* 2007; 74: 127-130 [PMID: 17337822 DOI: 10.1007/s12098-007-0003-4]
16 刘东明. 药物经济学的评价方法及应用比较. 中国药房 2009; 20: 383-385

编辑 黄新珍 电编 闫晋利

■同行评价

本研究结果显示含有呋喃唑酮的根除*H. pylori*四联疗法具有价格低廉, 疗效高, 耐药率低的优点, 研究结果对临床具有一定的指导和应用价值.

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

本刊讯 2011-12-02, 中国科学技术信息研究所在北京发布2010年中国科技论文统计结果, 经过中国精品科技期刊遴选指标体系综合评价, 《世界华人消化杂志》被评为2011年度中国精品科技期刊. 中国精品科技期刊以其整体的高质量示范作用, 带动我国科技期刊学术水平的提高. 精品科技期刊的遴选周期为三年. (《世界华人消化杂志》编辑部)

世界华人消化杂志 2013年5月18日; 21(14): 1372-1374
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

病例报告 CASE REPORT

发生于胃溃疡基底的增生性息肉1例

杨 娟, 杨玉珍, 但自力, 陈念钧, 周 琦

■背景资料
增生性息肉是胃息肉的常见类型, 为发生于胃黏膜的慢性增生性炎症, 预后良好, 较少恶变. 若内镜下息肉呈结节状, 或表面有糜烂坏死、颗粒状, 则应考虑恶变可能.

杨娟, 杨玉珍, 但自力, 陈念钧, 周琦, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科 湖北省武汉市 430030
杨娟, 主要从事消化系疾病的相关研究.
作者贡献分布: 本文写作由杨娟完成; 周琦审校; 内镜操作由周琦、杨玉珍、但自力及陈念钧完成.
通讯作者: 周琦, 副教授, 430030, 湖北省武汉市解放大道1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科.
zhouqi@tjh.tjmu.edu.cn
电话: 027-83663334
收稿日期: 2013-03-19 修回日期: 2013-04-11
接受日期: 2013-04-18 在线出版日期: 2013-05-18

A gastric hyperplastic polyp occurring in the ulcer base: A case report

Juan Yang, Yu-Zhen Yang, Zi-Li Dan, Nian-Jun Chen, Qi Zhou

Juan Yang, Yu-Zhen Yang, Zi-Li Dan, Nian-Jun Chen, Qi Zhou, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China
Correspondence to: Qi Zhou, Associate Professor, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 1095 Jiefang Avenue, Wuhan 430030, Hubei Province, China. zhouqi@tjh.tjmu.edu.cn
Received: 2013-03-19 Revised: 2013-04-11
Accepted: 2013-04-18 Published online: 2013-05-18

Abstract
A 44-year-old male patient suffering from upper gastrointestinal hemorrhage was initially diagnosed with gastric ulcer by gastroscopy. The lesion appeared poor responsive to proton-pump inhibitors; however, a neoplasm gradually formed in the ulcer base. The neoplasm was pathologically confirmed to be a gastric hyperplastic polyp occurring in the ulcer base after surgical resection of the lesion. Clinicians should improve the awareness of similar cases and avoid misdiagnosis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Hyperplastic polyp; Gastric ulcer

Yang J, Yang YZ, Dan ZL, Chen NJ, Zhou Q. A gastric hyperplastic polyp occurring in the ulcer base: A case report. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(14): 1372-1374
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1372.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i14.1372

■同行评议者
马欣, 主任医师, 甘肃省人民医院消化科; 张小晋, 主任医师, 北京积水潭医院

摘要
本文报道了1例临床少见病例, 患者以上消化道出血为首发症状, 初次胃镜提示为溃疡, 经奥美拉唑治疗效果不佳, 继而病灶溃疡基底发生隆起性病变, 怀疑恶性可能, 但多次胃镜下取活检病理不支持. 病变最终经外科手术切除并行病理检查确诊为增生性息肉伴溃疡. 临床医生应提高对类似病例的认识, 避免误诊.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 增生性息肉; 胃溃疡

核心提示: 胃增生性息肉是发生于胃黏膜慢性炎症基础上的病变, 根据其典型内镜下表现一般容易诊断. 本文在总结常见胃增生性息肉的临床表现、内镜特征及治疗方法的基础上, 报道了1例表现特殊的胃增生性息肉, 并对其诊治经过进行分析, 以期临床医生提高对类似少见病例的认识.

杨娟, 杨玉珍, 但自力, 陈念钧, 周琦. 发生于胃溃疡基底的增生性息肉1例. 世界华人消化杂志 2013; 21(14): 1372-1374
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1372.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i14.1372

0 引言
胃增生性息肉约占胃息肉的71.3%[1], 临床上对于其诊断主要依赖于内镜及病理检查, 根据其典型表现一般不易误诊. 本文报告了1例发生于溃疡基底的增生性息肉, 极易与恶性溃疡混淆, 以提高临床医生对类似特殊病例的认识.

1 病例报告
男, 44岁. 因“间断呕血、黑便1 mo余”于2012-11-23入我院消化内科住院治疗. 患者2012-10-06饭后服用泼尼松5 mg后出现呕吐, 呕吐物为咖啡渣样胃内容物, 伴有黑便. 患者初诊于外院行胃镜检查提示胃体后壁见约2.0 cm×1.0 cm深凹陷性溃疡并出血, 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)(-), 予对症止血及奥美拉唑(20 mg, po, qd)抑酸治疗后症状稍有缓解. 发病以来, 一般情况无明显变化. 既往有结缔

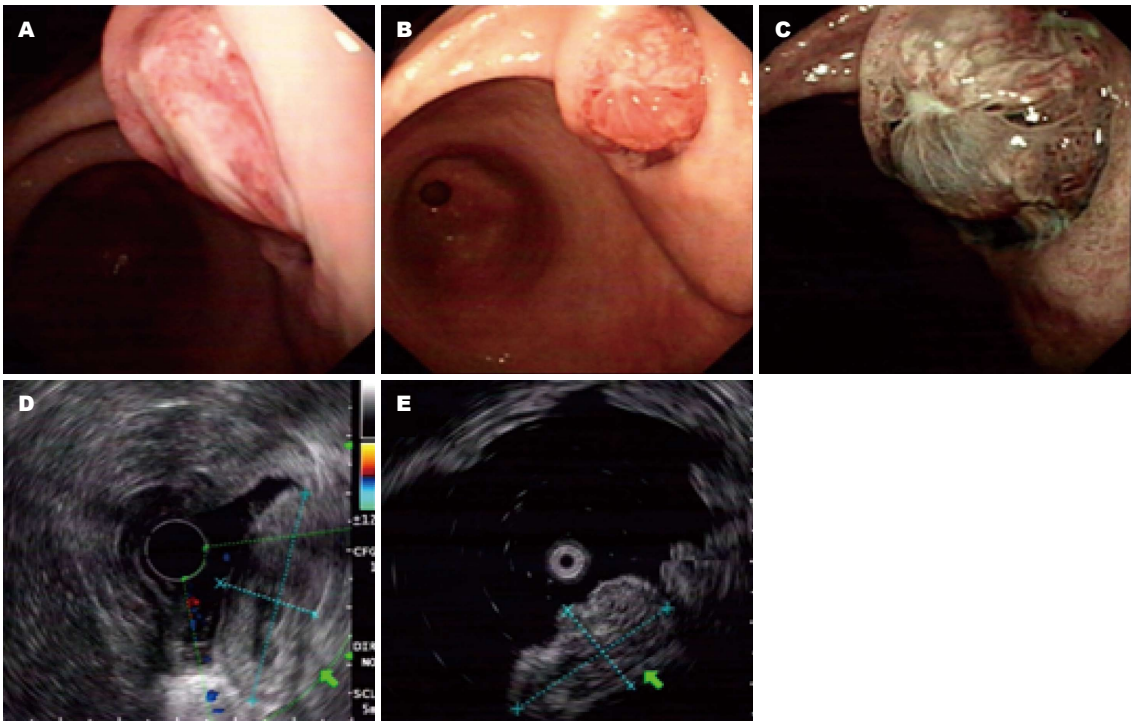


图 1 内镜下病灶表现. A: 2012-11-24胃镜表现; B-E: 2012-12-06超声胃镜结果; B: 胃镜直视病灶表现; C: NBI病灶表现; D, E: 超声下病灶表现.

■相关报道
国内外均未见关于发生于溃疡基底的增生性息肉详细个案报道. 国内关于增生性息肉的临床研究中提到, 对于较少部分发生癌变的息肉, 其形态多表现为乳头状、表面糜烂, 需经病理检查确诊.

组织病史(未分类), 长期口服泼尼松(5 mg, qd)治疗. 入院查体: T 36 ℃, P 92次/min, R 19次/min, BP 160/98 mmHg. 神志清楚, 自动体位. 满月脸, 双上肢、腹部、臀部皮肤散在红斑、脱屑, 右手指甲、双足趾甲均见增厚. 全身未扪及肿大淋巴结. 心、肺、腹部未及明显异常. 双下肢凹陷性水肿. 血清肿瘤标志物检测提示CA125略高(42.8 U/mL); 血红蛋白70 g/L; 粪便隐血(-). 2012-11-24胃镜下见图1A: 胃窦-体交界后壁见大小约1.5 cm×2.5 cm溃疡, 基底白苔, 稍隆起, 周边黏膜隆起, 结合病史及镜下表现, 怀疑病灶恶变可能取活检, 病理提示符合溃疡性病变; 免疫组织化学提示PCK、CK8/18阳性细胞大致分布正常. 予埃索美拉唑(40 mg+NS 100 mL, ivdrip, q8h)治疗2 wk后, 于2012-12-06行超声胃镜复查, 内镜下见图1B胃窦体交界处有大小约2.0 cm×3.0 cm隆起, 顶部可见大小约1.0 cm×1.5 cm溃疡面, 以NBI见图1C溃疡面边缘存在腺管开口, 以E型为主. 超声(图1D, E)提示胃窦体交界处稍高回声病灶, 累及胃壁前三层, 边缘欠清晰, 横切面大小约16.7 mm×30 mm, 内部回声不均匀, 内可见无回声区, 以彩色多普勒观察未见血流信号, 溃疡面管壁层次消失. 诊断怀疑神经纤维瘤或间质瘤可能, 再次取6块组织活检, 病理提示病灶处黏膜慢性炎症细胞浸润, 未见肿瘤病变; 免疫组织化学提示CD117(-), CD34(-), DOG1(-), SMA(-), DES(-), S-100(-), Ki-67LI(低). 因内科治疗效果不佳, 且经内镜及病理检查尚不能明确诊断, 故决定转胃肠外科手术切除病灶作整体活检. 手术探查胃浆膜面光滑, 打开胃体前壁见胃体后壁处病灶, 将胃体病变全层切除, 送病检提示囊样不规则组织大小约3.0 cm×1.5 cm×0.5 cm, 符合慢性胃炎并增生性息肉伴溃疡. 术后予抑酸及抗感染、补液治疗. 目前随访, 患者恢复良好, 自觉无不适症状.

2 讨论

胃壁共分4层, 自内向外依次为黏膜层、黏膜下层、肌层和浆膜层. 胃息肉多为起源于黏膜层、向胃腔内凸出的病变. 胃息肉病理上分为腺瘤性息肉和增生性息肉, 后者在临床中比较常见, 且多伴有慢性萎缩性胃炎. 胃息肉多发生于胃底、体部, 其机制尚不明确, 可能与胃黏膜反复的损伤、修复与腺体增生有关[2]. 胃息肉患者可长期无明显消化系症状, 多在做钡餐或胃镜检查时偶然发现. 当息肉并发糜烂或溃疡时, 患者可出现上腹部不适、腹痛、消化系出血, 多表现为粪便隐血(+)或黑便, 慢性病程者可伴有贫血. 目前, 胃息肉的诊断主要依赖于上消化道钡餐造影及内镜检查, 超声内镜检查有助于

■创新盘点
本文介绍1例内镜下表现特殊的增生性息肉, 详细描述了其诊治经过, 同时结合文献复习, 概括了胃增生性息肉的临床表现、内镜特征及治疗方法.

■同行评价
本文报告了1例发生于溃疡基底的增生性息肉, 临床上较为罕见. 本文条理分明, 研究方法科学, 结论明确, 有一定的临床实用价值.

明确病灶来源、大小, 其具体性质需经过病理检查才能确定. 内镜下息肉呈圆形或椭圆形, 表面一般光滑或呈桑葚样, 少数呈分叶状, 约半数直径在0.5-1.0 cm之间, 少数直径>2 cm, 有蒂或无蒂. 若内镜下息肉呈结节状, 或表面有糜烂坏死、颗粒状, 则应考虑恶变可能. 超声内镜下胃息肉表现为胃壁自黏膜层向胃腔内突起的中、低回声病灶, 周围胃壁层次清晰完整[3]. 行病灶处活检时, 由于取材有限, 有可能对恶性息肉漏诊. 因此, 多数息肉均应行息肉切除术并将息肉送病检. 通常经内镜下切除是胃息肉的首选治疗方法, 主要有高频电凝切除法、激光及微波切除法及氩离子凝固法等, 术后常规抑酸药物治疗.

本例患者以上消化道出血、溃疡形成为首发表现, 经内科药物治疗无效, 且从内镜表现上来看, 由单纯的溃疡发展到溃疡基底隆起病变形成, 再到隆起病变顶端发生浅溃疡, 病灶有逐渐增大趋势, 极易考虑为恶性病变可能. 从传统意义上讲, 息肉是起源于胃黏膜的病变, 增生性息肉常发生于胃黏膜慢性炎症的基础上, 与*H. pylori*感染有关[4,5], 较少发生恶变. 对此病例, 临床医师基于对患者病史总结, 考虑为恶性病变不乏依据, 但其最终确定诊断为增生性息肉并溃疡. 医师在该病例初期的诊疗过程中未考虑到增生性息肉, 这与其临床经验上通常对增生性息肉典型表现的认识亦分不开.

本例患者增生性息肉发生于溃疡的基础上, 且息肉表面不平, 有溃疡形成, 药物治疗效果差, 这种情况在临床上较为少见. 若临床上遇到发生于溃疡基底的隆起性病变, 经多次活检病理均不能诊断为恶性病变者, 可考虑排除息肉诊断. 临床医师应提高对这种特殊病例的认识, 避免诊断思路过于单一.

3 参考文献

1 Morais DJ, Yamanaka A, Zeitune JM, Andreollo NA. Gastric polyps: a retrospective analysis of 26,000 digestive endoscopies. *Arq Gastroenterol* 2007; 44: 14-17 [PMID: 17639176]
2 李元民, 李菁, 刘玉兰. 胃息肉发病机制相关因素研究. 胃肠病学和肝病学杂志 2007; 16: 522-524
3 徐松定, 谢亚萍, 徐良志, 胡爱珍. 胃息肉的超声诊断. 临床超声医学杂志 2001; 3: 42-43
4 苏艳, 黄晓东. 胃息肉的类型与幽门螺杆菌感染相关性研究. 临床消化病杂志 2006; 18: 301-302
5 郑发寿, 樊晓明, 刘红燕, 马元华, 王瑞娟. 胃增生性息肉危险因素分析. 中国内镜杂志 2004; 10: 25-26

编辑 田滢 电编 闫晋利

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

世界华人消化杂志 2013年5月18日; 21(14): Ⅰ-Ⅴ
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《世界华人消化杂志》投稿须知

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊.

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569)》是一份同行评议和开放获取期刊(Open Access Journal, OAJ), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版. 《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区.

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病学, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章. 最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病学实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平.

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group, BPG)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上. OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊. 论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本. BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑.目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平.

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录. 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号. 《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊.

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

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals). 见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47.

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称. 医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文. 公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录.

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等. 为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上. 中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤). 通常应小写.

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

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量. 如 30 kD改为M_r 30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即A_r(A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体). 计量单位在+、－及-后列出. 在±前后均要列出, 如37.6 ℃±1.2 ℃, 45.6岁±24岁, 56.4 d±0.5 d. 3.56±0.27 pg/ml应为3.56 ng/L±0.27 ng/L. BP用kPa(mmHg), RBC数用1×10^{12}/L, WBC数用1×10^{9}/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. M_r明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm×6 cm×4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO_2结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1×10^{-3} g与5×10^{-7} g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg•d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO_2, 50 mL/L CO_2; 1∶1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45×10^{-6}; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示.

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ^2; (4)样本的

相关系数用英文小写r; (5)自由度用希文小写υ; (6)样本数用英文小写n; (7)概率用英文斜体大写P. 在统计学处理中在文字叙述时平均数±标准差表示为mean±SD, 平均数±标准误为mean±SE. 统计学显著性用$^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套P值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第三套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L±0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6 347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的mean±SD应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g±420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg±0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm±0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48→23.5→24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母≤100, 百分数到个位; 101≤分母≤1 000, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名，按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wcjd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版.

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致.

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号. 格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”.

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码. 例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致.

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象. 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度. 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征. 如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准. 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写*P*, 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值).

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 正文内序号连排用(1), (2), (3). 以下逐条陈述.

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系.

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可.

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论.

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾.

图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …. 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: $^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第3套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$. *P*值后注明何种检验及其具体数字, 如$P<0.01$, $t = 4.56$ *vs* 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用*t*/min, *c*/(mol/L), *p*/kPa, *V*/mL, *t*/℃表达.

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上

角注码号. 如马连生[1]报告……, 潘伯荣等[2-5]认为……; PCR方法敏感性高[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部),书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp

4.2 研究原著写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp

4.3 焦点论坛写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp

4.4 文献综述写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp

4.5 研究快报写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp

4.6 临床经验写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcjy.asp

4.7 病例报告写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx. 无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投稿须知下载网址http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf. 审稿过程平均时间需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审.

6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删节时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有.

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

http: //www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进.

世界华人消化杂志 2013年5月18日; 21(14): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26
美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会
会议地点: 美国旧金山
联系方式: www.gicasym.org

2013-02-10/15
2013年肠道微生物组: 免疫网络效应/法规Keystone Symposia会议
会议地点: 美国
联系方式: info@keystonesymposia.org

2013-02-09/12
美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周(CNW 2013)
会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城
联系方式: http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508

2013-02-22/23
国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会
会议地点: 美国休斯顿
联系方式: http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1]

2013-02-22/23
迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议
会议地点: 美国
联系方式: cme.med.miami.edu/x88.xml

2013-03-01/31
2013年北京第七届疝和腹壁外科国际学术研讨会
会议地点: 北京市
联系方式: zhshfbwkzz@yahoo.com.cn

2013-03-01/04
2013加拿大消化疾病周(CDDW)
会议地点: 加拿大
联系方式: www.cag-acg.org/cddw

2013-03-07/10
亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议
会议地点: 新加坡
联系方式: www.apaslconference.org

2013-03-15/17
2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛
会议地点: 深圳市
联系方式: ewancool@hotmail.com

2013-03-14/16
中部外科学会(CSA)2013年会
会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛
联系方式: http://www.centralsurg.org/meeting/futuremtgs.html

2013-04-12/14
2013中国肛肠创新论坛(CICS)
会议地点: 北京市
联系方式: www.crdinnovation.com

2013-04-19/23
2013第2届国际肿瘤学论坛
会议地点: 瑞士
联系方式: cihexpo@163.com

2013-05-23/25
2013第六届世界癌症大会
会议地点: 西安市
联系方式: bithuiyi@163.com

2013-05-20/22
2013年第三届内分泌与代谢大会
会议地点: 西安市
联系方式: nancy@bitconferences.cn

2013-05-31/06-04
2013美国临床肿瘤协会年会
会议地点: 美国芝加哥
联系方式: yangxinxue999@163.com

2013-06-07/09
中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤营养与支持治疗学术会议
会议地点: 武汉市
联系方式: csonsc@VIP.163.com

2013-06-21/23
中国消化科学术论坛
会议地点: 张家界市
联系方式: casgmail@126.com

2013-07-13/14
中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会
会议地点: 银川市
联系方式: lilyjia@163.com

2014-09-26/30
第39届欧洲临床肿瘤学会年会
会议地点: 西班牙
联系方式: http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html

2013-10-18/20
第二十二届亚太抗癌大会
会议地点: 天津市
联系方式: secretariat@apcc2013.com

世界华人消化杂志 2013年5月18日; 21(14): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

陈国忠 主任医师
广西医科大学消化内科

陈洪 副教授
东南大学附属中大医院消化科

陈卫昌 教授
苏州大学附属第一医院消化内科

程树群 副教授
上海东方肝胆外科医院肝胆外科

党双锁 教授
西安交通大学医学院第二附属医院感染科

樊红 教授
东南大学基础医学院遗传与发育生物学系

樊晓明 教授
复旦大学附属金山医院消化科

冯志杰 主任医师
河北医科大学第二医院消化内科

傅思源 副教授
东方肝胆外科医院肝外三科

高国全 教授
中山大学中山医学院生化系

郭长江 研究员
军事医学科学院卫生学环境医学研究所

何敏 教授
广西医科大学医学科学实验中心

何向辉 教授
天津医科大学总医院普通外科

江建新 副主任医师
贵阳医学院附属医院肝胆胰脾外科

李淑德 教授
中国人民解放军第二军医大学长海医院 消化内科

刘炳亚 研究员
上海交通大学医学院附属瑞金医院上海消化外科研究所

刘长征 副教授
中国医学科学院基础医学研究所

刘丽江 教授
江汉大学医学院

刘连新 教授
哈尔滨医科大学第一临床医学院

吕凌 副教授
南京医科大学第一附属医院

门秀丽 教授
河北联合大学(原华北煤炭医学院)病理生理学教研室

彭亮 副主任医师
中山大学附属第三医院感染病学

倪才方 教授
苏州大学附属第一医院介入科

彭宗根 副研究员
中国医学科学院北京协和医学院医药生物技术研究所

邱伟华 主任医师
上海交通大学医学院附属瑞金医院普外科

任粉玉 教授
吉林省延边大学附属医院消化内科

王德盛 副主任医师
中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆外科

吴君 主任医师
贵阳医学院附属医院感染科

夏敏 教授
中山大学营养学

周国雄 主任医师
南通大学附属医院消化内科

世界华人消化杂志
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《**世界华人消化杂志**》入编《中文核心期刊要目总览》2011 年版（即第六版）之 **临床医学/特种医学类** 的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了 73 个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN 号、CN 号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被索量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web 下载量等 9 个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到 60 余种，统计到的文献数量共计 221177 余万篇次，涉及期刊 14400 余种。参加核心期刊评审的学科专家达 8200 多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出 1982 种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂

撰安

《中文核心期刊要目总览》2011 年版编委会

代章：

2012 年 1 月



百世登

Baishideng®

Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,
315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com



 © 2013 Baishideng. All rights reserved.

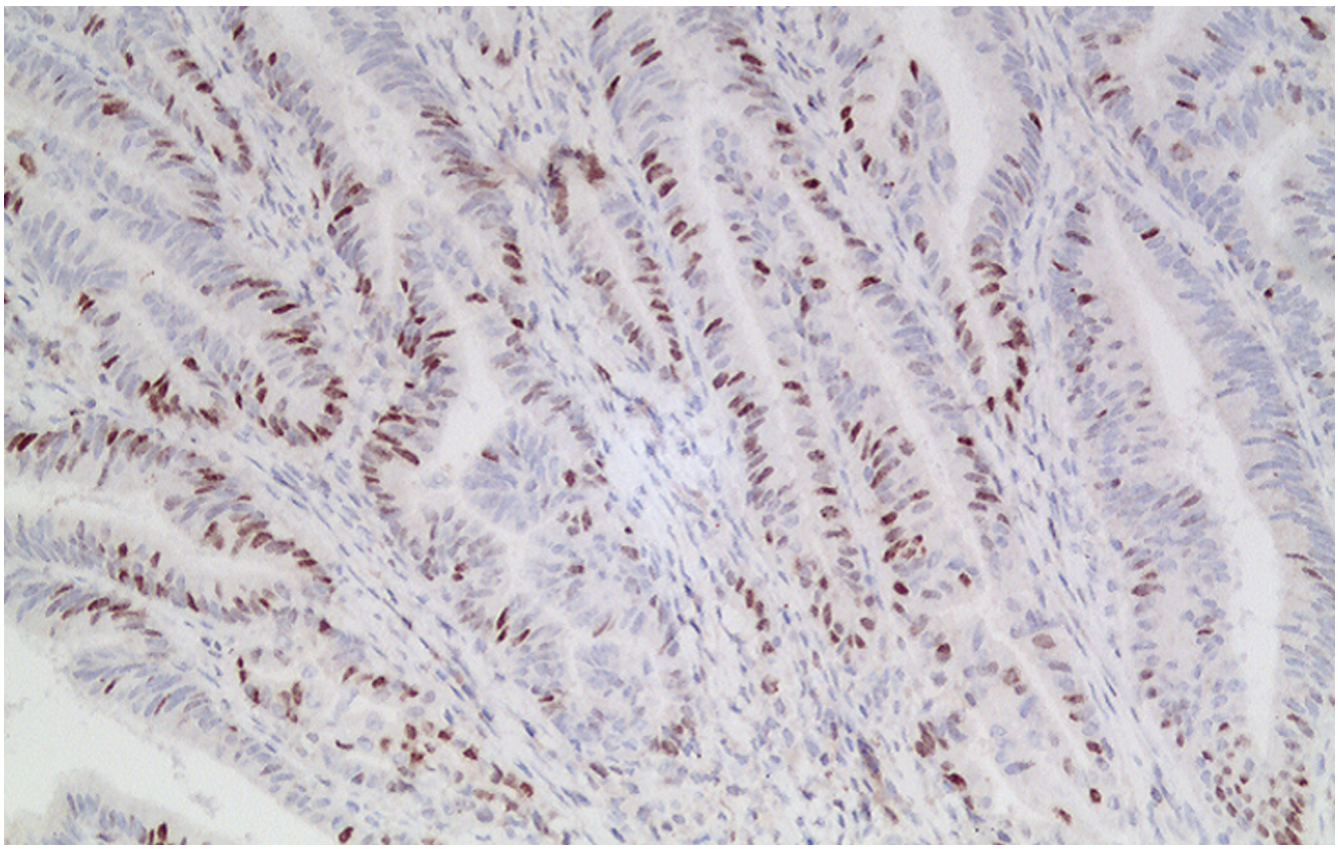
ISSN 1009-3079 (print)
ISSN 2219-2859 (online)

世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2013 年 5 月 28 日　第 21 卷　第 15 期　(Volume 21 Number 15)



15/2013

ISSN 1009-3079
15>

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

世界华人消化杂志
www.wjgnet.com
二零一三年五月二十八日
第二十一卷
第十五期

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

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

总顾问

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

名誉主编

潘伯荣教授

主编

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

编委

消化内科学

白爱平副教授
白岚教授
卜平教授
陈国忠主任医师
陈洪副教授
陈其奎教授
陈卫昌教授
陈贻胜教授
程斌教授
迟宝荣教授
崔立红教授
邓鑫教授
丁士刚教授
董蕾教授
杜雅菊主任医师
杜奕奇副教授
樊冬梅副主任医师
樊晓明教授
房静远教授
冯志杰主任医师
傅春彬主任医师
甘华田教授
高凌副教授
戈之铮教授
关玉盘教授
关晓辉主任医师
郭晓钟教授
郝建宇教授
郝丽萍副教授
何继满教授
何松教授
洪天配教授
黄培林教授
黄晓东主任医师
黄颖秋教授
黄缘教授
季国忠教授
江米足教授
姜春萌教授
姜慧卿教授
姜相君主任医师
金瑞教授
蓝宇教授
李淑德教授
李瑜元教授
李玉民教授
廖家智副主任医师
林志辉教授
刘冰熔教授
刘凤斌教授
刘改芳主任医师
刘海峰主任医师
刘海林主任医师
刘亮明副教授
陆伦根教授
马红主任医师
马欣主任医师
毛恩强教授
毛高平教授
孟庆华教授
缪应雷主任医师
倪润洲教授
欧希龙副教授
潘秀珍教授
潘阳林副教授
朴云峰教授
秦成勇教授
任粉玉教授
任建林教授
邵先玉教授
沈琳主任医师
沈薇教授
施瑞华教授
宋军副教授
唐世刚教授
田宇彬教授
度必光教授
宛新建副教授
王邦茂教授
王炳元教授
王承党教授
王江滨教授
王俊平教授
王蔚虹教授
王晓艳副教授
夏冰教授
夏时海副教授
徐灿霞教授
徐可树教授
杨建民教授
张国主任医师
姚树坤教授
张国梁主任医师
张军教授
张庆瑜教授
张小晋主任医师
张筱茵副教授
张志坚教授
郑培永教授
郑鹏远教授
郑素军副主任医师
郑勇教授
周国雄主任医师
周宇教授
邹晓平主任医师
诸琦教授
于珮主任医师

消化外科学

白雪副主任医师
白雪巍副主任医师
白玉作教授
蔡开琳副教授
蔡三军主任医师
曹杰主任医师
陈炳官教授
陈光教授
陈海龙教授
陈积圣教授
陈进宏副主任医师
陈凛教授
陈汝福教授
陈亚军主任医师
陈钟教授
程爱国教授
程树群副教授
崔云甫教授
戴朝六教授
戴冬秋教授
丁义涛教授
杜顺达副教授
房林教授
傅红副教授
傅华群教授
傅思源副教授
傅晓辉副教授
傅志仁主任医师
高毅主任医师
葛海燕教授
巩鹏副教授
谷俊朝主任医师
顾国利副主任医师
顾岩教授
韩天权教授
郝纯毅主任医师
郝立强副教授
何超教授
何向辉教授
何晓顺教授
何裕隆教授
胡安斌副教授
黄志勇教授
季加孚教授
荚卫东教授
姜波健教授
金山主任医师
康春博副主任医师
孔静副教授
黎乐群教授
李革副教授
李国威教授
李华副教授
李华山主任医师
李升平教授
李胜研究员
李涛副主任医师
李文岗教授
李小荣教授
李旭副教授
李永翔教授
李正荣副教授
李志霞教授
李宗芳教授
梁力建教授
刘宝林教授
刘超教授
刘宏鸣副教授
刘建教授
刘亮副主任医师
刘颖斌主任医师
卢军华教授
陆云飞教授
禄韶英副教授
吕凌副教授
吕云福教授
麻勇副研究员
齐清会教授
秦春宏副主任医师
秦华东教授
秦环龙教授
秦建民主任医师
邱伟华主任医师
仇毓东教授
崔清波副教授
单云峰副主任医师
沈柏用副教授
施宝民教授
施诚仁教授
施晓雷副主任医师
石毓君副研究员
宋新明教授
宋振顺教授
孙诚谊教授
孙文兵教授
孙星副教授
孙学英教授
邰升副教授
谭晓冬教授
汤朝晖副主任医师
汤绍涛教授
唐南洪教授

世界华人消化杂志®

编辑委员会

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

消化感染病学

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

消化中医药学

陈治水主任医师
杜群副研究员
扈晓宇主任医师
黄恒青主任医师
李军祥教授
李康副教授
李晓波教授
李勇副教授
李振华教授
刘成海研究员
刘绍能主任医师
鲁玉辉副教授
南极星教授
牛英才研究员
谭周进教授
王富春教授
王来友副教授
王笑民主任医师
邢建峰副教授
徐列明教授
许玲教授
徐庆教授
袁红霞研究员
张声生教授

消化肿瘤学

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

消化影像学

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

消化内镜及介入治疗学

郝俊鸣副主任医师
李家平教授
刘杰民副主任医师
茅爱武教授
孙明军教授
万军教授
吴沛宏教授
余日胜主任医师
袁友红副教授
张火俊副教授

消化中西医结合学

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

消化基础研究

曹洁副教授
曹鹏副研究员
陈敬贤教授
陈志龙教授
崔莲花副教授
段义农教授
樊红教授
高国全教授
高英堂研究员
管冬元副教授
郭长江研究员
郭俊明教授
何红伟副研究员
何敏教授
黄昆教授
黄文林教授
黄园教授
洪艳教授
李刚教授
李君文研究员
李孟森教授
李文贵副教授
李焱副研究员
李增山副教授
刘长征副教授
刘克辛教授
刘森副教授
宁钧宇副研究员
彭宗根副研究员
任超世研究员
任浩副教授
任晓峰副教授
邵华副主任药师
沈东炎副教授
沈涛副教授
斯坎德尔·白克力教授
台桂香教授
谭学瑞教授
汤静主管药师
滕旭副教授
田文静副教授
汪思应教授
王钦红教授
王书奎教授
魏继福研究员
文彬研究员
吴道澄教授
吴江锋副教授
吴军研究员
吴俊华副教授
吴志强副教授
夏敏教授
徐健副主任医师
徐宁志研究员
许文燮教授
杨晓明教授
阴赪宏研究员
郁卫东副研究员
喻荣彬教授
曾柱教授
张红教授
张淑坤副研究员
赵平教授
赵铁建教授
周南进研究员
周素芳教授
周晓武副主任医师
朱益民教授
竺亚斌研究员

消化病理学

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

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目　次 ●　2013 年 5 月 28 日　第 21 卷　第 15 期　(总第419期)

述　评

1375 努力提高溃疡性结肠炎生物治疗的水平
江学良, 樊华

基础研究

1381 去肝交感神经对部分肝切除大鼠肝细胞增殖的影响
张新胜, 赵丹丹, 王改平, 徐存拴

文献综述

1387 血清前白蛋白对肝功能评估的研究进展
韦丽娅, 翟永贞, 冯国和

1394 选择性Cox-2抑制剂治疗胰腺癌的研究进展
李佳, 刘志明

研究快报

1400 蜂毒素调节人胃癌细胞线粒体相关蛋白表达
陶文华, 孔桂美, 卜平, 王继军, 胡茂志, 张强

1405 隔药饼灸对功能性胃肠病(肝郁脾虚证)大鼠海马和杏仁核AMPA受体亚基表达的影响
章海凤, 刘未艾, 常小荣, 刘密, 张国山, 石佳

临床经验

1412 应用聚桂醇经BRTO治疗孤立性胃底静脉曲张23例
赵东强, 姜慧卿, 马俊骥, 王晓经, 刘增品, 赵琳, 张楠

1417 肠内及肠外营养在根治性远端胃大部切除术后胃瘫治疗中的作用
王月, 龙锦

1421 TS和BRCA1在胃癌组织中的表达及其临床意义
林雅萍, 李厚强, 苏慧君, 钟国栋, 郑圆圆, 刘伟, 齐兴峰, 余英豪

1428 TAZ蛋白在胃癌组织中的表达及其临床意义
李远航

1432 恩替卡韦联合苦参素治疗e抗原阳性慢性乙型肝炎的荟萃分析
齐有涛, 左维泽

1437 重组人p53腺病毒注射液在原发性肝癌介入化疗中的应用价值
冯晓峰, 郑永志, 周春柳, 孔祥毓, 李淑德, 孙卫东

1442 DYRK2在胰腺癌中的表达及临床意义
李旭, 王敏, 江建新, 田锐, 石程剑, 秦仁义

1448 单气囊小肠镜在空回肠憩室出血中的诊治价值
陈念钧, 孟晓岩, 侯伟, 王渝, 黎培员, 谢华平

1453 低剂量英夫利昔单抗不同给药次数治疗激素抵抗型溃疡性结肠炎
高净, 江学良

1458 雷帕霉素在溃疡性结肠炎患者应用的临床价值评估
吴慧丽, 张利, 李琨琨, 肖兴国, 肖锋, 罗金键

1462 蛋白酪氨酸磷酸酶非受体型22基因rs2488457位点多态性与溃疡性结肠炎的相关性
陈志涛, 吴杰, 王萍, 张姮, 夏冰, 黄晓东

1468 幽门螺杆菌感染与克罗恩病的关系
崔德军, 杨敏, 朱敏, 李宇

附　　录	Ⅰ-Ⅴ　《世界华人消化杂志》投稿须知 Ⅰ　2013年国内国际会议预告
志　　谢	Ⅰ　志谢世界华人消化杂志编委
消　　息	1380　《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 1386　《世界华人消化杂志》正文要求 1393　中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 1404　《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 1411　《世界华人消化杂志》修回稿须知 1416　中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 1436　《世界华人消化杂志》栏目设置 1452　《世界华人消化杂志》参考文献要求 1467　《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊
封面故事	林雅萍, 李厚强, 苏慧君, 钟国栋, 郑圆圆, 刘 伟, 齐兴峰, 余英豪. TS和BRCA1在胃癌组织中的表达及其临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(15): 1421-1427 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1421.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i15.1421
本期责任人	编务 马帅; 送审编辑 鲁亚静, 闫晋利; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 黄新珍; 形式规范审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平　题写封面刊名
陈可冀　题写版权刊名

(旬刊)

创　刊 1993-01-15
改　刊 1998-01-25
出　版 2013-05-28
原刊名 新消化病学杂志

期刊名称
世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

主编
程英升, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心
党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科
江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科
刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科
刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科
吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科
马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科
王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科
姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心
张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部
田滢, 主任
《世界华人消化杂志》编辑部
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室
电话: 010-59080035
传真: 010-85381893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

出版
百世登出版集团有限公司
Baishideng Publishing Group Co., Limited
Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

制作
北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室
电话: 010-85381892
传真: 010-85381893

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

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

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

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

定价
每期68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归Baishideng所有

World Chinese Journal of Digestology

May 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 15

EDITORIAL

1375 Efforts to improve biological treatment of refractory ulcerative colitis
Jiang XL, Fan H

BASIC RESEARCH

1381 Effect of hepatic sympathetic denervation on hepatocyte proliferation in rats after partial hepatectomy
Zhang XS, Zhao DD, Wang GP, Xu CS

REVIEW

1387 New advances in the use of serum prealbumin as an index of liver function
Wei LY, Zhai YZ, Feng GH

1394 Selective COX-2 inhibitors for treatment of pancreatic cancer: Research progress
Li J, Liu ZM

RAPID COMMUNICATION

1400 Melittin regulates mitochondrial protein expression in human gastric cancer cells
Tao WH, Kong GM, Bo P, Wang JJ, Hu MZ, Zhang Q

1405 Influence of cake-separated moxibustion on expression of AMPA receptor subunits in the amygdala and hippocampus in a rat model of functional gastrointestinal disorder (liver-stagnation and spleen-deficiency syndrome)
Zhang HF, Liu WA, Chang XR, Liu M, Zhang GS, Shi J

CLINICAL PRACTICE

1412 Treatment of isolated gastric varices by balloon-occluded retrograde transvenous obliteration using lauromacrogol: An analysis of 23 cases
Zhao DQ, Jiang HQ, Ma JJ, Wang XJ, Liu ZP, Zhao L, Zhang N

1417 Effect of enteral nutrition *vs* parenteral nutriton in management of gastroparesis after radical subtotal gastrectomy
Wang Y, Long J

1421 Clinical significance of TS and BRCA1 protein overexpression in gastric cancer
Lin YP, Li HQ, Su HJ, Zhong GD, Zheng YY, Liu W, Qi XF, Yu YH

1428 Clinical significance of expression of TAZ protein in gastric cancer
Li YH

1432 Entecavir plus matrine *vs* entecavir monotherapy for HBeAg-positive chronic hepatitis B: A Meta-analysis
Qi YT, Zuo WZ

1437 Gendicine in interventional chemotherapy of primary hepatocarcinoma
Feng XF, Zheng YZ, Zhou CL, Kong XY, Li SD, Sun WD

1442 Clinical significance of expression of DYRK2 in pancreatic cancer
Li X, Wang M, Jiang JX, Tian R, Shi CJ, Qin RY

1448 Value of single balloon endoscopy in the diagnosis and treatment of jejunoileal diverticular hemorrhage
Chen NJ, Meng XY, Hou W, Wang Y, Li PY, Xie HP

1453 Low-dose infliximab for corticosteroid-refractory ulcerative colitis: Impact of number of infusions on efficacy and safety
Gao J, Jiang XL

1458 Rapamycin for treatment of ulcerative colitis
Wu HL, Zhang L, Li KK, Xiao XG, Xiao F, Luo JJ

1462 Association between protein tyrosine phosphatase nonreceptor type 22 gene rs2488457 polymorphism and ulcerative colitis
Chen ZT, Wu J, Wang P, Zhang H, Xia B, Huang XD

1468 Relationship between *Helicobacter pylori* infection and Crohn's disease: A Meta-analysis
Cui DJ, Yang M, Zhu M, Li Y

APPENDIX	I – V Instructions to authors of *World Chinese Journal of Digestology* I Meeting events calendar in 2013
ACKNOWLEDGMENT	I Acknowledgments to reviewers of *World Chinese Journal of Digestology*
COVER	*Lin YP, Li HQ, Su HJ, Zhong GD, Zheng YY, Liu W, Qi XF, Yu YH*. Clinical significance of TS and BRCA1 Protein overexpression in gastric cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(15): 1421-1427 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1421.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i15.1421
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: *Shuai Ma* Review Editor: *Ya-Jing Lu, **Jin-Li Yan*** Electronic Page Editor: *Ya-Jing Lu* English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Editor-in-Charge: *Xin-Zhen Huang* Proof Editor: *Ying Tian* Layout Editor: *Lian-Sheng Ma*

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

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date May 28, 2013

NAME OF JOURNAL
World Chinese Journal of Digestology

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

EDITOR-IN-CHIEF
Ying-Sheng Cheng, Professor, Medical Imaging Center, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China
Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China
Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China
Lian-Xin Liu, Professor, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China
Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China
Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hang-zhou 310006, Zhejiang Province, China
Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China
Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China
Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China
Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

EDITORIAL OFFICE
Ying Tian, Director
World Chinese Journal of Digestology
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-59080035
Fax: +86-10-85381893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

PUBLISHER
Baishideng Publishing Group Co., Limited
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,
315-321 Lockhart Road, Wan Chai,
Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188
E-mail: bpg@baishideng.com
http://www.wjgnet.com

PRODUCTION CENTER
Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu,
Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-85381892
Fax: +86-10-85381893

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

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

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

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2013年5月28日; 21(15): 1375-1380
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

述评 EDITORIAL

努力提高溃疡性结肠炎生物治疗的水平

江学良, 樊 华

江学良, 樊华, 中国人民解放军济南军区总医院消化科 山东省济南市 250031
江学良, 教授, 主任医师, 主要从事溃疡性结肠炎和干细胞的临床研究.
北京医学奖励基金会基金资助项目, No. XHYSJNJQZ-002
作者贡献分布: 此课题由江学良设计; 资料整理与数据分析由樊华完成; 课题设计、文章修改及审阅由江学良完成.
通讯作者: 江学良, 教授, 250031, 山东省济南市师范路25号, 中国人民解放军济南军区总医院消化科.
jiangxueliang678@126.com
收稿日期: 2013-03-14 修回日期: 2013-04-15
接受日期: 2013-04-19 在线出版日期: 2013-05-28

Efforts to improve biological treatment of refractory ulcerative colitis

Xue-Liang Jiang, Hua Fan

Xue-Liang Jiang, Hua Fan, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China
Supported by: the Beijing Medical Award Foundation, No. XHYSJNJQZ-002
Correspondence to: Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, 25 Shifan Road, Jinan 250031, Shandong Province, China. jiangxueliang678@126.com
Received: 2013-03-14 Revised: 2013-04-15
Accepted: 2013-04-19 Published online: 2013-05-28

Abstract

Biological preparations for the treatment of refractory or severe ulcerative colitis have achieved good results over the past ten years, but their use is not widespread in China. Based on foreign literature and our experience, in this paper we review the advances in biological treatment of refractory ulcerative colitis in terms of treatment indications, contraindications, dosage and duration of treatment, adverse reactions, and biological conversion treatment, with an aim to improve biological treatment of this refractory disease.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Ulcerative colitis; Infliximab; Adalimumab

Jiang XL, Fan H. Efforts to improve biological treatment of refractory ulcerative colitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(15): 1375-1380 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1375.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i15.1375

摘要

近十年, 生物制剂用于顽固性或者重度溃疡结肠炎的治疗取得了较好效果, 具有起效快、临床缓解率及黏膜愈合率高及不良反应少等优点, 目前应用最广泛、循证证据最丰富的是英夫利西单抗, 其次是阿达木单抗, 但国内溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)生物制剂临床应用很少. 本文结合国外文献及我们的经验对UC生物治疗的现状、适应证、禁忌证、使用剂量和疗程、不良反应处理、生物制剂转换治疗等作一介绍, 以期提高国内UC生物治疗水平.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 溃疡性结肠炎; 英夫利西单抗; 阿达木单抗

核心提示: 生物制剂用于顽固性或者重度溃疡性结肠炎(ulcerative colitis)的治疗已经取得了较好效果, 具有起效快、临床缓解率及黏膜愈合率高及不良反应少等优点, 但应严格掌握适应证、禁忌证、使用剂量和疗程、不良反应处理、生物制剂转换治疗时机.

江学良, 樊华. 努力提高溃疡性结肠炎生物治疗的水平. 世界华人消化杂志 2013; 21(15): 1375-1380 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1375.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i15.1375

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)病因和发病机制还未完全阐明, 治疗缺乏特异性, 导致病情反复发作, 并发症多. 氨基水杨酸制剂、糖皮质激素及免疫抑制剂是治疗UC的常用药物, 但对于重度或者顽固型UC, 上述常用药物治疗效果还不理想. 近十年, 生物制剂用于顽固性或者重度UC的治疗取得了较好效果, 但国内临床应用较少, 本文结合国外文献及我们的经验对UC生物治疗的现状、适应证、禁忌证、使用剂量和

■背景资料
近十年, 生物制剂用于欧美国家顽固性或者重度溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)的治疗取得了较好效果, 但国内临床应用较少, 对生物治疗的适应证、禁忌证、使用剂量和疗程、不良反应处理、生物制剂转换治疗等的了解尚浅.

■同行评议者
缪应雷, 主任医师, 昆明医科大学第一附属医院消化内科

■研发前沿
UC生物治疗的适应证、禁忌证、使用剂量和疗程、生物制剂转换治疗时机、如何同其他药物联合或者序贯使用、不良反应处理是目前研究的热点.

疗程、不良反应处理、生物制剂转换治疗等作一介绍.

1 生物制剂临床应用现状

生物制剂是以炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)免疫和炎症反应过程的不同环节为作用靶点研制的新型药物. 主要制剂有: T淋巴细胞激活抑制剂、前炎症因子抑制剂、抗炎症因子、生长因子等. 其中, 目前应用最广泛、循证证据最丰富的是抗肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)抗体英夫利西单抗(infliximab, IFX). IFX是一种抗肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)人鼠嵌合体IgG1单克隆抗体, 由人体恒定区和鼠类可变区组成, 其中75%为人源化, 25%为鼠源化, IFX可阻断IBD免疫反应级联链中的多个环节, 能与可溶性肿瘤坏死因子, 膜肿瘤坏死因子结合, 通过激活补体和抗体介导的细胞毒反应诱导炎性细胞溶解, 是较早应用于临床的生物制剂, 至今在世界各地已应用10余年. 据估计, 目前全球大约有近百万患者应用IFX治疗. 2005年经美国食品药品管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准IFX应用于UC的治疗. 两项大型随机对照试验(active ulcerative colitis trial 1 and active ulcerative colitis trial 2, ACT-1和ACT-2)为IFX应用于UC患者提供了佐证[1,2]. 这两项研究共纳入728例患者, ACT1和ACT2分别对激素、硫唑嘌呤治疗无效和氨基水杨酸治疗无效的轻-中度门诊患者应用IFX诱导和维持缓解效果进行了分析, 研究设5 mg/kg、10 mg/kg IFX和安慰剂3组, 在0、2和6 wk给药, 然后每8 wk注射一次, ACT1持续46 wk, ACT2持续22 wk. 结果显示两个剂量的IFX对诱导和维持缓解均较安慰剂有效. 观察至54 wk, IFX组相比安慰剂组可以明显降低结肠切除术比率[3].

IFX自2007年核准进入我国, 主要用于克罗恩病(Crohn's disease, CD)的诱导缓解和维持治疗, 国内对该药应用于UC患者治疗报道较少. 我们从2008年开始到2010年曾经对13例激素抵抗UC患者应用IFX治疗进行了为期30 wk的观察[4], 发现IFX治疗后8 wk, 有8例患者实现完全缓解. 第30周, 8例完全缓解患者中5例维持完全缓解, 2例部分缓解, 仅1例复发. 全部患者无一例出现IFX治疗相关的严重并发症, 显示了良好的临床应用前景. 截止到2013-01我们用IFX治疗激素抵抗型UC患者超过70例, 结果表明, 英夫利西治疗激素抵抗型UC患者起效快, 大部分患者1 wk内症状改善或者缓解, 2 wk内大便次数基本正常. 临床有效率>85%, 缓解率>70%, 高于国外相关报道, 而我们应用的剂量则低于国外报道常规剂量(5 mg/kg).

2 哪些患者需要使用生物治疗

在全球范围内, 尽管生物治疗在许多国家广泛获益, 但目前全球仅有不到15%的IBD患者应用抗TNF治疗. 在我国, UC重症患者比例较欧美少见, 有相当一部分患者仅用氨基水杨酸制剂, 活动期辅以糖皮质激素能够有效控制病情. 因此, 并非所有患者都需要生物治疗[5]. 然而, 随着UC患者越来越多, 病程越来越长, 顽固性病例越来越多, 在我们医院, 来就诊的UC患者, 90%都是顽固性病例, 需要使用生物治疗的病例必然越来越多. 特别是对那些预后不良的高危患者进行早期干预则非常必要. 但有关基因型、血清学、免疫学指标应用于不良预后预测还处于研究阶段[6,7]. 因此对哪些患者需要使用生物治疗还需要更多循证医学证据支持. 以下患者可以考虑使用生物治疗.

2.1 顽固性中-重度UC 中-重度的活动性UC, 对糖皮质激素治疗无效或激素依赖者, 和/或免疫抑制剂(如硫唑嘌呤等)治疗无效者, 或不能耐受上述药物治疗(存在禁忌证或严重不良反应)者. 对确诊时具有上述预测疾病预后不良高危因素者, 如有条件, 可考虑早期给予IFX治疗.

2.2 急性重度UC 研究表明[2], 需入院治疗且对静脉应用激素抵抗的严重UC患者, IFX能够减少50%的结直肠切除率. 因此, IFX可作为急性重度UC患者进行长期免疫抑制治疗之前一种有效而安全的挽救性疗法.

总之, 适应证的推荐除了参照临床研究证据, 还应考虑IFX应用的效益风险比以及费用效益比, 并结合我国实际情况而定. 但要注意应用生物制剂的时机, 使用时机太晚往往错过最佳治疗时间, 导致病情恶化或者并发症增多, 甚至死亡.

3 哪些患者不适合用生物治疗

活动性感染, 未经治疗的潜伏性结核病, 存在脱髓鞘疾病或视神经炎, 中-重度充血性心脏衰竭及恶性肿瘤病史患者不适合用.

4 生物治疗应用剂量和疗程

在ACT研究中, IFX 5 mg/kg与10 mg/kg剂量间并

未显示差异, 故一般推荐5 mg/kg作为起始剂量. 对于应答下降或失应答(下述)患者, 经调整剂量至10 mg/kg, 部分患者能重获应答. 关于诱导和维持缓解的疗程, 国外多推荐在第0、2、6周给予IFX 5 mg/kg作为诱导缓解, 随后每隔8 wk给予相同剂量作长程维持治疗. 结合我国国情, 长期使用IFX的费用颇大, 因此我们通常将IFX作为一种过渡, 待病情完全缓解且可停用激素后, 停用IFX继续以免疫抑制剂维持, 以期快速诱导缓解, 减轻并发症发生率和减少结肠手术率. 在本期中, 我们还首次报道应用低剂量IFX(3.5 mg/kg)治疗激素抵抗型UC患者, 在8 wk内是有效、安全的. 需要强调的是, 应尽可能长程连续规律给药[8], 谨慎评估停药指证, 若根据症状变化不定期间歇给药, 则可能导致应答下降、不良反应增加[8,9]. IFX输液时程应>2 h, 并在经过处理输液反应训练的人员监护下进行.

5 何时可以停止生物治疗

目前关于终止生物治疗指证尚无定论, 关于UC停药可供参考的资料更少. 一般来说, 大多数患者开始生物治疗时即应当考虑到远期后续治疗. 患者类型、经济条件等都会影响治疗终止. CD治疗初步证据显示, 临床缓解>1年、CRP正常及黏膜愈合患者, 可以预见停药后维持1年缓解. 有研究表明[10], 20%对IFX应答CD患者能够在一个可变时间范围内停药. 停药后潜在后果(复发、对重复诱导低应答、感染风险)应当就患者个体情况分别进行讨论. 一般认为, 对抗TNF治疗应答满一年的患者, 应当评估继续治疗获益与终止治疗的危险性. 对完成黏膜愈合及无活动性炎症生物学证据的患者可以考虑终止治疗. 但关于UC患者何时终止生物治疗还需要更多循证医学证据支持.

6 生物制剂不良反应及处理

IFX最常见的不良反应包括输液反应、感染、自身免疫、淋巴瘤和恶性肿瘤. 其他罕见但严重不良反应包括肝脏毒性, 诱发或加重多发性硬化症或视神经炎和充血性心力衰竭等[11].

6.1 *输液反应* 在ACT研究中, 大约有10%的患者发生输液反应, 这一比例在存在抗IFX抗体患者中更高[1]. 输液反应发生在药物输注期间和停止输注2 h内, 以轻-中度多见, 包括潮红、头痛、头晕、胸痛、咳嗽、呼吸困难、发热及皮肤瘙痒等. 减慢输液速度或暂时停止输液、预防性给予糖皮质激素和抗组胺药物[11]可以缓解输液反应. 输液反应的产生与抗IFX抗体产生有关, 故规律给药、合并使用免疫抑制剂均可降低输液反应的发生率.

6.2 *迟发型过敏反应或血清病样反应* 在UC患者中的发病率为1%-2%. 临床表现为肌痛、关节痛、发热、皮疹或类似的血清病样反应症状, 短期应用糖皮质激素能够有效改善症状[12].

6.3 *感染* (1)结核: IFX能够增加结核杆菌感染机会[13], 多表现为肺外结核并常有播散过程. 在用药前加强结核潜在感染的筛选及预防性治疗能有效降低肺结核发病风险[14], 用药期间应对结核分枝杆菌感染进行定期随访监测. T细胞斑点试验能够有效避免传统结核检测手段存在的观察者偏倚及假阴性问题. 对于活动性肺结核, 则应在IFX使用前彻底治愈[14]; (2)其他依赖巨噬细胞的机会性感染: 在ACT研究中, 3%的患者发生了严重感染. Lichtenstein等[15]采用多因素分析认为, 重症感染发生率与类固醇、麻醉剂及更严重的疾病活动性关系更大. 然而, 更多的研究[16,17]则倾向于IFX能够增加机会性感染. 故应强调用药前严格排除感染, 用药期间严密监测; (3)此外, IFX还诱发乙型肝炎病毒复制, 因此开始IFX治疗前应进行乙型肝炎筛查和强化疫苗接种, HBsAg阳性者合用抗病毒治疗同时还要定期随访监测转氨酶及HBV DNA.

6.4 *肿瘤* TNF能够促进细胞凋亡和抑制肿瘤, 而干扰这一途径会增加肿瘤的危险性. 但淋巴瘤本身的低发生率及联用免疫抑制剂, 都使鉴别IFX肿瘤危险性变得困难. Cottone等[18]报道年龄是应用IFX发生严重感染和肿瘤的重要危险因素, 高龄患者(≥65岁)出现严重感染、肿瘤的发生率均高于低年龄(<65岁)及高龄但应用非生物制剂治疗者. 提示对于高龄患者, 使用IFX应格外注意安全问题.

6.5 *心力衰竭及其他* 鉴于应用IFX存在使心功能进一步下降的风险, 失代偿性心力衰竭患者应列为IFX禁忌症. 视神经炎和多发性硬化症的报道罕见, 可作为相对禁忌证[19]. 我们应用IFX治疗的70多例UC患者中, 随访期间仅有1例患者发生皮肤瘙痒等轻微输注反应, 停止IFX治疗并给予醋酸地塞米松注射液治疗后症状很快消失. 未出现其他不良反应, 这除与我们严格掌握用药指证、控制滴速等有关外, 还可能与患者均为激素抵抗型, 治疗期间均正接受激素治疗、使用IFX剂量低及用药次数少等因素有关. 我们

■相关报道
中重度UC患者在第0、2、6周及间隔8 wk接受英夫利西单抗治疗在第8、30及54周较安慰剂组获得明显的临床缓解.

■创新盘点
本文介绍了应用英夫利西单抗(infliximab, IFX)生物治疗诱导顽固性溃疡性结肠炎缓解后采用硫唑嘌呤维持治疗、应用低剂量不同给药次数IFX生物治疗的经验及采用阿达木单抗进行转换治疗尝试.

应用阿达木单抗治疗UC的病例目前还没有观察到与阿达木单抗治疗相关的不良反应.

7 生物治疗失应答及处理

7.1 原发性失应答 随机对照研究显示有10%-30%患者对抗TNF治疗起始即无应答, 称之为“原发性失应答”, 原发性无应答界定不应早于8-12 wk, 即0、2、6 wk IFX诱导后即可确定是否应答, 但是, 很少有患者对前两次给药无应答而第3次给药时出现反应.

7.2 继发性失应答 起始对IFX应答而随时间推移失应答者称之为“继发性失应答”. 继发性无应答可能由于病情相关因素或药物相关因素包括中和抗体产生, 药物批号不同及生物逃逸机制导致. 对IFX应答减低或失应答可通过增加剂量至10 mg/kg和减小注射间隔重获应答反应[5], 也可以换用其他生物制剂治疗.

8 生物治疗疗效预测因素

关于UC对IFX治疗应答预测因素研究资料较少[20,21]. 短期应答预测因素包括年轻患者及缺乏中性粒细胞胞浆抗体[22]. 结肠切除术独立预测因素包括缺乏短期临床应答, 基线期CRP>5 mg/L及既往静脉应用激素或环孢霉素[23]. 但这些因素是否能预测疗效还需要更多循证医学证据支持.

9 几种特殊情况的处理

9.1 合并结核菌素试验阳性患者的处理 (1)胸部X线片提示活动性肺结核或结核菌素试验强阳性者必须予正规抗结核治疗并确定治愈后才能使用IFX; (2)有下列情况之一, 胸部X线片提示陈旧性肺结核、结核菌素试验阳性、T细胞斑点试验阳性、近期有结核病接触史, 但可排除活动性结核病者, 应先行抗隐性结核分枝杆菌感染预防性治疗后再使用IFX, 并在使用IFX过程中继续进行预防性治疗(异烟肼治疗2 mo后开始使用IFX, 并继续合用异烟肼4 mo), 亦可在开始使用IFX时同用预防性治疗(开始使用IFX起合用异烟肼6 mo); (3)既往有结核病史已接受标准治疗并确定治愈者可直接开始IFX治疗[24].

9.2 合并HBsAg阳性患者的处理: (1)对HBsAg阳性伴转氨酶升高和/或HBV DNA≥10^3拷贝/mL者, 先予抗病毒治疗至转氨酶恢复正常且HBV DNA降至<10^3拷贝/mL才开始IFX治疗, 治疗期间继续进行抗病毒治疗; (2)HBsAg阳性但转氨酶正常且HBV DNA阴性者应在使用IFX前1 wk开始抗病毒治疗; (3)HBsAg阴性、抗HBc阳性者在IFX治疗期间应密切监测HBV DNA和HBsAg, 若出现阳性则应加行抗病毒治疗.

9.3 妊娠期和哺乳期用药管理 妊娠期使用IFX的安全性属B级, 即危险性较低. 但为保险起见, 建议妊娠期禁用, 治疗过程中应避孕, 若在治疗过程中怀孕宜停药. 研究证明IFX的IgG1抗体在前3 mo妊娠期不透过胎盘, 有限的统计资料亦提示妊娠期一直使用IFX妇女的婴儿畸形率并不高于普通人群. 有研究证明, IFX的IgG1抗体在妊娠3 mo后可透过胎盘, 因此理论上会增加新生儿机会感染的危险性、降低疫苗接种的有效性. IFX不进入乳汁, 哺乳期使用IFX对婴儿无影响.

10 生物治疗方案

10.1 联合用药 在使用IFX前正在接受糖皮质激素治疗者, 在开始IFX治疗时应继续原治疗. 在取得临床完全缓解后可将糖皮质激素逐步减量至停用. 尚不清楚在UC患者中联合使用硫唑嘌呤能否增强IFX的疗效. 同时使用硫唑嘌呤能够减少抗IFX抗体的形成. 在ACT研究中, 抗核抗体和抗双链DNA阳性率分别为30%和10%. 但两药长期合用可增加机会感染和淋巴瘤的发生风险, 尤其应避免年轻患者长期两药合用.

10.2 药物过渡 对IFX应答的静脉激素抵抗住院患者, 免疫调节剂治疗能够获得长期应答而无需重复规律治疗, 尽管这一结论还需要更多证据证实. Järnerot等[2]研究发现, 在24例IFX治疗后2年的住院患者中, 仅有4例需要追加IFX治疗, 15例应答患者中有13例使用硫唑嘌呤随访两年. IFX治疗随后过渡到硫唑嘌呤疗法能够使急性严重UC患者获得长期应答, 目前还很难解释在这一方面UC有别于CD的生物学原因. 我们用IFX治疗激素抵抗型UC患者, 取得临床应答后过度到硫唑嘌呤治疗, 超过一半的患者能够获得长期应答, 这种序贯治疗方案可能更适合中国国情.

随着研究的深入, 目前对IFX应用于UC诱导和维持缓解治疗都有了新的评价和认识. 然而如何寻求治疗和不良反应之间的平衡, 掌握停药和转变治疗时机等问题仍需关注. 我们期待更多的患者从中受益.

其他生物制剂还有阿达木单抗等, 可以用于IFX不耐受患者的转换治疗. 我们在国内率先报道应用阿达木单抗治疗重度顽固性UC, 初步观察具有较好的安全性和有效性[25].

11 结论

生物制剂用于顽固性或者重度溃疡结肠炎的治疗取得了较好效果, 具有起效快、临床缓解率及黏膜愈合率高及不良反应少等优点, 目前应用最广泛、循证证据最丰富的是IFX, 其次是阿达木单抗. 但应严格掌握生物治疗适应证、禁忌证、使用剂量和疗程、不良反应处理、生物制剂转换治疗时机, 并开展更多循证医学临床研究.

12 参考文献

1 Rutgeerts P, Sandborn WJ, Feagan BG, Reinisch W, Olson A, Johanns J, Travers S, Rachmilewitz D, Hanauer SB, Lichtenstein GR, de Villiers WJ, Present D, Sands BE, Colombel JF. Infliximab for induction and maintenance therapy for ulcerative colitis. *N Engl J Med* 2005; 353: 2462-2476 [PMID: 16339095 DOI: 10.1056/NEJMoa050516]

2 Järnerot G, Hertervig E, Friis-Liby I, Blomquist L, Karlén P, Grännö C, Vilien M, Ström M, Danielsson A, Verbaan H, Hellström PM, Magnuson A, Curman B. Infliximab as rescue therapy in severe to moderately severe ulcerative colitis: a randomized, placebo-controlled study. *Gastroenterology* 2005; 128: 1805-1811 [PMID: 15940615]

3 Sandborn WJ, Rutgeerts P, Feagan BG, Reinisch W, Olson A, Johanns J, Lu J, Horgan K, Rachmilewitz D, Hanauer SB, Lichtenstein GR, de Villiers WJ, Present D, Sands BE, Colombel JF. Colectomy rate comparison after treatment of ulcerative colitis with placebo or infliximab. *Gastroenterology* 2009; 137: 1250-1260; quiz 1520 [PMID: 19596014 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.06.061]

4 江学良. 英夫利西单抗治疗激素抵抗型溃疡性结肠炎临床观察. 中华消化杂志 2010; 30: 564-565

5 D'Haens GR, Panaccione R, Higgins PD, Vermeire S, Gassull M, Chowers Y, Hanauer SB, Herfarth H, Hommes DW, Kamm M, Löfberg R, Quary A, Sands B, Sood A, Watermeyer G, Lashner B, Lémann M, Plevy S, Reinisch W, Schreiber S, Siegel C, Targan S, Watanabe M, Feagan B, Sandborn WJ, Colombel JF, Travis S. The London Position Statement of the World Congress of Gastroenterology on Biological Therapy for IBD with the European Crohn's and Colitis Organization: when to start, when to stop, which drug to choose, and how to predict response? *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 199-212; quiz 213 [PMID: 21045814 DOI: 10.1038/ajg.2010.392]

6 Ferrante M, Henckaerts L, Joossens M, Pierik M, Joossens S, Dotan N, Norman GL, Altstock RT, Van Steen K, Rutgeerts P, Van Assche G, Vermeire S. New serological markers in inflammatory bowel disease are associated with complicated disease behaviour. *Gut* 2007; 56: 1394-1403 [PMID: 17456509 DOI: 10.1136/gut.2006.108043]

7 Vermeire S, Van Assche G, Rutgeerts P. Role of genetics in prediction of disease course and response to therapy. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 2609-2615 [PMID: 20518082]

8 Su CG, Lichtenstein GR. Influence of immunogenicity on the long-term efficacy of infliximab in Crohn's disease. *Gastroenterology* 2003; 125: 1544-1546 [PMID: 14598275]

9 Rutgeerts P, Feagan BG, Lichtenstein GR, Mayer LF, Schreiber S, Colombel JF, Rachmilewitz D, Wolf DC, Olson A, Bao W, Hanauer SB. Comparison of scheduled and episodic treatment strategies of infliximab in Crohn's disease. *Gastroenterology* 2004; 126: 402-413 [PMID: 14762776]

10 Schnitzler F, Fidder H, Ferrante M, Noman M, Arijs I, Van Assche G, Hoffman I, Van Steen K, Vermeire S, Rutgeerts P. Long-term outcome of treatment with infliximab in 614 patients with Crohn's disease: results from a single-centre cohort. *Gut* 2009; 58: 492-500 [PMID: 18832518 DOI: 10.1136/gut.2008.155812]

11 Hoentjen F, van Bodegraven AA. Safety of anti-tumor necrosis factor therapy in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 2067-2073 [PMID: 19418577]

12 Cheifetz A, Smedley M, Martin S, Reiter M, Leone G, Mayer L, Plevy S. The incidence and management of infusion reactions to infliximab: a large center experience. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 1315-1324 [PMID: 12818276]

13 Fidder H, Schnitzler F, Ferrante M, Noman M, Katsanos K, Segaert S, Henckaerts L, Van Assche G, Vermeire S, Rutgeerts P. Long-term safety of infliximab for the treatment of inflammatory bowel disease: a single-centre cohort study. *Gut* 2009; 58: 501-508 [PMID: 18832524 DOI: 10.1136/gut.2008.163642]

14 Mow WS, Abreu-Martin MT, Papadakis KA, Pitchon HE, Targan SR, Vasiliauskas EA. High incidence of anergy in inflammatory bowel disease patients limits the usefulness of PPD screening before infliximab therapy. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004; 2: 309-313 [PMID: 15067625]

15 Lichtenstein GR, Feagan BG, Cohen RD, Salzberg BA, Diamond RH, Chen DM, Pritchard ML, Sandborn WJ. Serious infections and mortality in association with therapies for Crohn's disease: TREAT registry. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4: 621-630 [PMID: 16678077]

16 Toruner M, Loftus EV, Harmsen WS, Zinsmeister AR, Orenstein R, Sandborn WJ, Colombel JF, Egan LJ. Risk factors for opportunistic infections in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2008; 134: 929-936 [PMID: 18294633 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.01.012]

17 Bongartz T, Sutton AJ, Sweeting MJ, Buchan I, Matteson EL, Montori V. Anti-TNF antibody therapy in rheumatoid arthritis and the risk of serious infections and malignancies: systematic review and meta-analysis of rare harmful effects in randomized controlled trials. *JAMA* 2006; 295: 2275-2285 [PMID: 16705109]

18 Cottone M, Kohn A, Daperno M, Armuzzi A, Guidi L, D'Inca R, Bossa F, Angelucci E, Biancone L, Gionchetti P, Ardizzone S, Papi C, Fries W, Danese S, Riegler G, Cappello M, Castiglione F, Annese V, Orlando A. Advanced age is an independent risk factor for severe infections and mortality in patients given anti-tumor necrosis factor therapy for inflammatory bowel disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011; 9: 30-35 [PMID: 20951835 DOI: 10.1016/j.cgh.2010.09.026]

19 Clark M, Colombel JF, Feagan BC, Fedorak RN, Hanauer SB, Kamm MA, Mayer L, Regueiro C, Rutgeerts P, Sandborn WJ, Sands BE, Schreiber S,

■应用要点

探讨适合中国UC患者生物治疗方案, 包括使用剂量和疗程、生物制剂转换治疗时机、如何同其他药物联合或者序贯使用、不良反应处理.

■同行评价
本文思路清晰, 科学性佳, 可读性强, 具有一定临床指导意义.

Targan S, Travis S, Vermeire S. American gastroenterological association consensus development conference on the use of biologics in the treatment of inflammatory bowel disease, June 21-23, 2006. *Gastroenterology* 2007; 133: 312-339 [PMID: 17631151]
20 Arijs I, Li K, Toedter G, Quintens R, Van Lommel L, Van Steen K, Leemans P, De Hertogh G, Lemaire K, Ferrante M, Schnitzler F, Thorrez L, Ma K, Song XY, Marano C, Van Assche G, Vermeire S, Geboes K, Schuit F, Baribaud F, Rutgeerts P. Mucosal gene signatures to predict response to infliximab in patients with ulcerative colitis. *Gut* 2009; 58: 1612-1619 [PMID: 19700435 DOI: 10.1136/gut.2009.178665]
21 Seow CH, Newman A, Irwin SP, Steinhart AH, Silverberg MS, Greenberg GR. Trough serum infliximab: a predictive factor of clinical outcome for infliximab treatment in acute ulcerative colitis. *Gut* 2010; 59: 49-54 [PMID: 19651627 DOI: 10.1136/gut.2009.183095]
22 Ferrante M, Vermeire S, Katsanos KH, Noman M, Van Assche G, Schnitzler F, Arijs I, De Hertogh G, Hoffman I, Geboes JK, Rutgeerts P. Predictors of early response to infliximab in patients with ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 123-128 [PMID: 17206703]
23 Ferrante M, Vermeire S, Fidder H, Schnitzler F, Noman M, Van Assche G, De Hertogh G, Hoffman I, D'Hoore A, Van Steen K, Geboes K, Penninckx F, Rutgeerts P. Long-term outcome after infliximab for refractory ulcerative colitis. *J Crohns Colitis* 2008; 2: 219-225 [PMID: 21172214 DOI: 10.1016/j.crohns.2008.03.004]
24 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组. 英夫利西治疗克罗恩病的推荐方案(2011年). 中华消化杂志 2011; 31: 822-823
25 江学良. 阿达木治疗重度顽固性溃疡性结肠炎个案报道. 医学新知杂志 2012; 22: 143-145

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版)

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

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

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

世界华人消化杂志 2013年5月28日; 21(15): 1381-1386
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

去肝交感神经对部分肝切除大鼠肝细胞增殖的影响

张新胜, 赵丹丹, 王改平, 徐存拴

张新胜, 赵丹丹, 王改平, 徐存拴, 河南师范大学生命科学学院 河南省新乡市 453007
张新胜, 博士, 副教授, 主要从事神经生物学与发育生物学的相关研究.
河南省基础与前沿技术研究计划基金资助项目, No. 082300450540
河南省科技攻关计划基金资助项目, No. 112102310652
作者贡献分布: 此课题由张新胜与徐存拴设计; 实验过程由张新胜与赵丹丹完成; 数据分析由赵丹丹完成; 本论文写作由张新胜与王改平完成.
通讯作者: 张新胜, 副教授, 453007, 河南省新乡市建设东路46号, 河南师范大学生命科学学院. xszhang51@163.com
电话: 0373-3326340
收稿日期: 2013-03-19 修回日期: 2013-04-19
接受日期: 2013-04-27 在线出版日期: 2013-05-28

Effect of hepatic sympathetic denervation on hepatocyte proliferation in rats after partial hepatectomy

Xin-Sheng Zhang, Dan-Dan Zhao, Gai-Ping Wang, Cun-Shuan Xu

Xin-Sheng Zhang, Dan-Dan Zhao, Gai-Ping Wang, Cun-Shuan Xu, College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang 453007, Henan Province, China
Supported by: the Henan Basic and Frontier Technology Research Program, No. 082300450540; and the Henan Key Technology R&D Program, No. 112102310652
Correspondence to: Xin-Sheng Zhang, Associate Professor, College of Life Sciences, Henan Normal University, 46 Jianshe East Road, Xinxiang 453007, Henan Province, China. xszhang51@163.com
Received: 2013-03-19 Revised: 2013-04-19
Accepted: 2013-04-27 Published online: 2013-05-28

Abstract

AIM: To investigate the effect of hepatic sympathetic denervation on hepatocyte proliferation in rats after partial hepatectomy.

METHODS: Eighty-four male SD rats were randomly divided into a control group or an experimental group (42 rats for each group). The control group was subjected to partial hepatectomy (PH), and the experimental group underwent hepatic sympathetic denervation followed by PH. Rats in both groups were killed at 12, 24, 36, 48, 72, 120 or 168 h (6 rats at each time point) after surgery. The liver to body weight ratio was measured at each time point, and silver staining and immunohistochemical staining were performed to detect the expression of argyrophilic nucleolar organizer region-associated proteins (AgNORs) and hepatic proliferation cell nuclear antigen (PCNA) at each time point.

RESULTS: At 48 and 168 h after surgery, the liver to body weight ratios in the experimental group increased significantly compared to the control group (0.0311 ± 0.0011 *vs* 0.0267 ± 0.0008, 0.0500 ± 0.0056 *vs* 0.0412 ± 0.0061, both $P < 0.05$). At 36, 48 and 120 h, the average number of hepatocytes containing AgNORs particles was significantly lower in the experimental group than in the control group (1.82 ± 0.10 *vs* 2.79 ± 0.08, 2.01 ± 0.14 *vs* 2.57 ± 0.26, 2.08 ± 0.12 *vs* 2.46 ± 0.07, all $P < 0.05$). At 24-168 h, PCNA expression in hepatocytes was significantly lower in the experimental group than in the control group (all $P < 0.05$).

CONCLUSION: Hepatic sympathetic denervation inhibits hepatocyte division and proliferation in rats after partial hepatectomy.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Liver regeneration; Sympathetic denervation; Partial hepatectomy; Argyrophilic nucleolar organizer region-associated proteins; Proliferation cell nuclear antigen

Zhang XS, Zhao DD, Wang GP, Xu CS. Effect of hepatic sympathetic denervation on hepatocyte proliferation in rats after partial hepatectomy. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(15): 1381-1386 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1381.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i15.1381

摘要

目的: 探讨去肝交感神经对肝部分切除大鼠肝细胞增殖的影响.

方法: 将84只♂SD大鼠随机分为对照组和实验组, 每组42只. 对照组大鼠行部分肝切除, 实验组大鼠去肝交感神经后进行部分肝切除. 两组大鼠分别在手术后12、24、36、48、72、120和168 h(每个时间点6只大鼠)处死取材,

■背景资料
哺乳动物肝脏有很强的再生能力, 而肝再生的过程受到许多因素的影响. 肝脏受交感神经和副交感神经双重支配, 肝脏神经在肝脏功能调控中发挥着重要作用. 因此, 探讨肝脏神经在肝再生中的作用及其机制具有重要意义.

■同行评议者
徐迅迪, 教授, 中南大学湘雅二医院肝胆胰外科

■研发前沿
肝再生是一个多步骤复杂的过程, 可以分为启动、再生和终止3个阶段. 以往关于肝再生的研究多集中在一些因子或通路对上述3个阶段的作用上. 近年来关于神经在肝再生中的作用越来越受到关注, 所以探讨交感神经在肝再生中的作用非常有意义.

测量各时间点肝/体质量比; 用银染法显示肝细胞核仁组织区相关嗜银蛋白(argyrophilic nucleolar organizer region-associated proteins, AgNORs); 用免疫组织化学法检测肝细胞增殖细胞核抗原(proliferation cell nuclear antigen, PCNA)的表达.

结果: 实验组大鼠的肝/体质量比在术后48、168 h(分别为0.0311±0.0011和0.0500±0.0056)显著高于对照组(分别为0.0267±0.0008和0.0412±0.0061)(P<0.05), 其余各时间点两组间无明显差异; 实验组肝细胞AgNORs颗粒平均数在术后36、48、120 h(分别为1.82±0.10、2.01±0.14和2.08±0.12)显著低于对照组(分别为2.79±0.08、2.57±0.26和2.46±0.07)(P<0.05); 从术后24-168 h实验组肝细胞PCNA的表达显著低于对照组(P<0.05).

结论: 去肝交感神经对肝切除后肝细胞的增殖可能有抑制作用.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 肝再生; 去交感神经; 部分肝切除; 核仁组织区相关嗜银蛋白; 增殖细胞核抗原

核心提示: 去交感神经对肝再生影响方面的研究较少, 报道的结果也不一致. 本研究结果显示, 去肝脏交感神经肝再生过程中, 肝细胞核仁组织区相关嗜银蛋白(argyrophilic nucleolar organizer region-associated proteins)颗粒数和肝细胞增殖细胞核抗原(proliferation cell nuclear antigen)的表达明显降低, 提示去肝交感神经对肝切除后肝细胞的增殖可能有抑制作用.

张新胜, 赵丹丹, 王改平, 徐存拴. 去肝交感神经对部分肝切除大鼠肝细胞增殖的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(15): 1381-1386 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1381.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i15.1381

0 引言

哺乳动物肝脏有很强的再生潜能, 而肝再生的过程受到许多因素的影响[1-3]. 有研究发现, 肝交感神经参与肝切除后肝再生过程的调节. Ohtake等[4]的研究发现去肝脏交感神经对肝重没有显著影响, 从而认为去肝脏交感神经对肝再生没有影响. 而Michalopoulos等[5]发现去肝脏交感神经可抑制肝细胞的DNA合成及有丝分裂过程, 因此认为去交感神经可能抑制肝细胞再生. 夏锋等[6]的研究发现去交感神经状态可抑制肝再生的进程. 目前, 去交感神经对肝再生影响方面的研究较少, 报道的结果也不一致. 因此, 本研究中我们以肝/体质量比, 肝细胞内核仁组织区相关嗜银蛋白(argyrophilic nucleolar organizer region-associated proteins, AgNORs)颗粒平均数以及肝细胞增殖细胞核抗原(proliferation cell nuclear antigen, PCNA)的表达为研究指标, 探讨大鼠肝部分切除后去肝交感神经对肝细胞增殖的影响.

1 材料和方法

1.1 材料 成年健康纯系SD♂大鼠84只(河南师范大学实验动物中心提供), 体质量210 g±20 g. 将大鼠随机分为对照组和实验组, 每组42只.

1.2 方法

1.2.1 手术方法: 实验组: 按Lautt等[7]的方法处理, 即大鼠行乙醚吸入法麻醉, 固定大鼠于手术板上, 腹部消毒后, 在腹部正中纵行切开3 cm长切口, 显露肝脏, 剥离下腔静脉、门静脉、肝固有动脉和胆总管, 在胆管、门静脉、肝动脉周围涂以90%苯酚溶液, 去除肝交感神经, 然后采用Higgins等[8]方法进行部分肝切除(partial hepatectomy, PH). 对照组: 在胆管、门静脉、肝动脉周围涂以生理盐水代替90%苯酚溶液, 然后进行PH. 大鼠手术后常规饲养.

1.2.2 肝/体质量比的计算: 在术后第12、24、36、48、72、120、168小时处死两组大鼠, 分别称取大鼠的体质量、肝质量, 计算各时间点大鼠的肝/体质量之比.

1.2.3 取材与制片: 取两组大鼠各时间点部分肝组织用10%中性缓冲甲醛固定, 常规制作石蜡切片.

1.2.4 银染法显示AgNORs: 按张文学等[9]方法显示AgNORs. 每张切片从肝小叶中央静脉区、门管区和其他部位随机选择5个视野进行图像采集, 然后用Image-pro plus图像分析软件测定每个细胞核内AgNORs颗粒平均数.

1.2.5 免疫组织化学法检测肝细胞PCNA的表达: 参照PV-6002二步法免疫组织化学检测试剂盒步骤检测PCNA的表达. 一抗为PCNA单抗(1∶100稀释, 购自武汉博士德公司), 二抗PV-6002(山羊抗小鼠IgG抗体-HRP多聚体工作液, 购自北京中杉公司). 以PBS代替一抗进行阴性对照. 随机采集5个视野的图像, 用Image-pro plus图像分析软件分析肝细胞PCNA的表达, 以每张图片上PCNA的积分吸光度(IA)值表示肝细胞PCNA的表达强度, IA值越大, 表示PCNA的表达越强.

统计学处理 实验所得数据以mean±SD

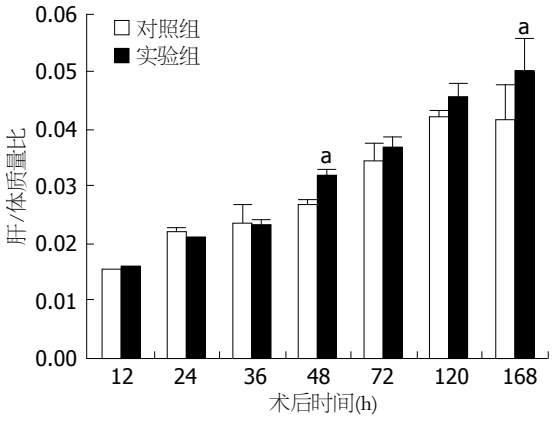


图 1 大鼠肝/体质量比的比较. $^aP<0.05$ *vs* 对照组.

表示, 采用单因素方差分析对数据进行统计学分析.

2 结果

2.1 肝/体质量比 对照组和实验组大鼠的肝/体质量比在术后都呈现增加趋势(图1). 除术后24 h外, 其余时间点实验组大鼠的肝/体质量比均大于对照组. 其中, 在术后48、168 h实验组大鼠的肝/体质量比(分别为0.0311±0.0011和0.0500±0.0056)显著高于对照组(分别为0.0267±0.0008和0.0412±0.0061)($P<0.05$), 其余各时间点两组间无明显差异.

2.2 肝细胞AgNORs 银染法显示, 肝细胞内AgNORs颗粒被染成黑色或黑褐色(图2). 两组大鼠肝细胞内AgNORs颗粒平均数呈现先上升然后下降的趋势. 在术后第36、48和120小时, 实验组肝细胞内AgNORs颗粒平均数(分别为1.82±0.10、2.01±0.14和2.08±0.12)显著低于对照组(分别为2.79±0.08、2.57±0.26和2.46±0.07)($P<0.05$), 其他各时间点两组间没有明显差异. 在术后36 h对照组AgNORs颗粒平均数(2.79±0.08)达到峰值, 在术后72 h实验组AgNORs颗粒平均数达到峰值(2.21±0.11)(图3).

2.3 肝细胞内PCNA的表达 免疫组织化学结果显示, 肝细胞内PCNA阳性表达呈棕色, 染色强度深浅不一(图4). 对照组PCNA表达的峰值处于术后48 h, 实验组PCNA表达的峰值处于术后36 h. 从术后24-168 h, 实验组PCNA的表达(IA分别为25263.16±2105.26、34736.84±7368.42、30526.32±2736.82、28421.05±502.35、25263.16±4736.64、12210.53±312.67)显著低于对照组(IA分别为93894.74±1263.16、107368.42±7578.95、109473.68±4736.83、65263.16±6842.11、64210.53±5263.16、15789.43±5052.63)($P<0.05$)(图5).

3 讨论

目前, 关于肝交感神经是否参与肝切除后肝再生过程的调节已有相关报道[4-6]. 从报道的结果看, 这些研究的结论是不一致的. 究其原因, 可能与研究中所用的去肝交感神经的方法有关. 在以往的研究中, 去除交感神经的方法主要有: 化学性切除[6](经肠系膜静脉注入六羟多巴胺6-OHDA)、外科手术切除[4]和肝动脉、门静脉周围施用90%苯酚水溶液切除[7]等. Cucchiaro等[10]比较了上述方法后认为, 在门静脉周围施用90%苯酚水溶液去交感神经最为合适. 基于此, 本研究中我们就采用该方法去除大鼠肝交感神经, 以肝/体质量比、肝细胞内AgNORs颗粒平均数以及肝细胞PCNA的表达为指标, 探讨了大鼠部分肝切除后去交感神经对肝细胞增殖的影响.

肝/体质量比是研究肝再生的一个宏观指标, 该值的大小反映肝再生能力的强弱. AgNORs是核仁组织区内与rDNA转录有关的酸性蛋白, 细胞核内AgNORs颗粒的数量反映rDNA转录活性的水平, AgNORs颗粒越多, 说明细胞的转录活性越高、增殖能力越强[11,12]. 有研究显示, 在大鼠再生肝细胞中AgNORs的量是正常静止肝细胞中的2倍[13], 所以该指标常被用来反映细胞的增殖活性[13-15]. PCNA是一个在进化上非常保守的、与细胞增殖密切相关的核内酸性蛋白质, 通过调节参与DNA复制的DNA多聚酶δ活性参与DNA的合成过程[16,17], 细胞中PCNA的含量和表达强弱的变化与DNA合成及DNA复制的活跃程度相一致[18]. 此外, 其还与其他一些重要的生命过程密切相关, 如DNA修复、细胞周期调控等[19-21]. 以上研究均表明PCNA与细胞增殖是密切相关的. 因此, 把AgNORs和PCNA常作为肝再生研究的微观指标[12,13].

本研究结果显示, 术后两组大鼠的肝/体质量比都呈现增加趋势, 在多数时间点两组大鼠的肝/体质量比没有明显差异, 只是在48和168 h实验组大鼠的肝/体质量比显著大于对照组($P<0.05$). 从这项指标的这两个时间点来讲, 去肝交感神经可能促进肝部分切除后肝的再生. 然而我们的结果还发现, 术后36、48和120 h, 实验组大鼠肝细胞内AgNORs颗粒平均数显著减少($P<0.05$), 表明实验组大鼠肝细胞的转录活性下

■相关报道
Ohtake等的研究发现去肝脏交感神经对肝重没有显著影响, 故而认为去交感神经对肝再生没有影响. Michalopoulos等的研究发现去肝脏交感神经可抑制肝细胞DNA的合成及有丝分裂过程, 因此认为去交感神经可能抑制肝细胞再生.

■创新盘点

本研究以肝/体质量为宏观指标、以肝细胞内核仁组织区相关嗜银蛋白和肝细胞增殖细胞核抗原表达为微观指标, 通过这些指标的变化来探讨肝交感神经在部分肝切除大鼠肝再生中的可能作用.

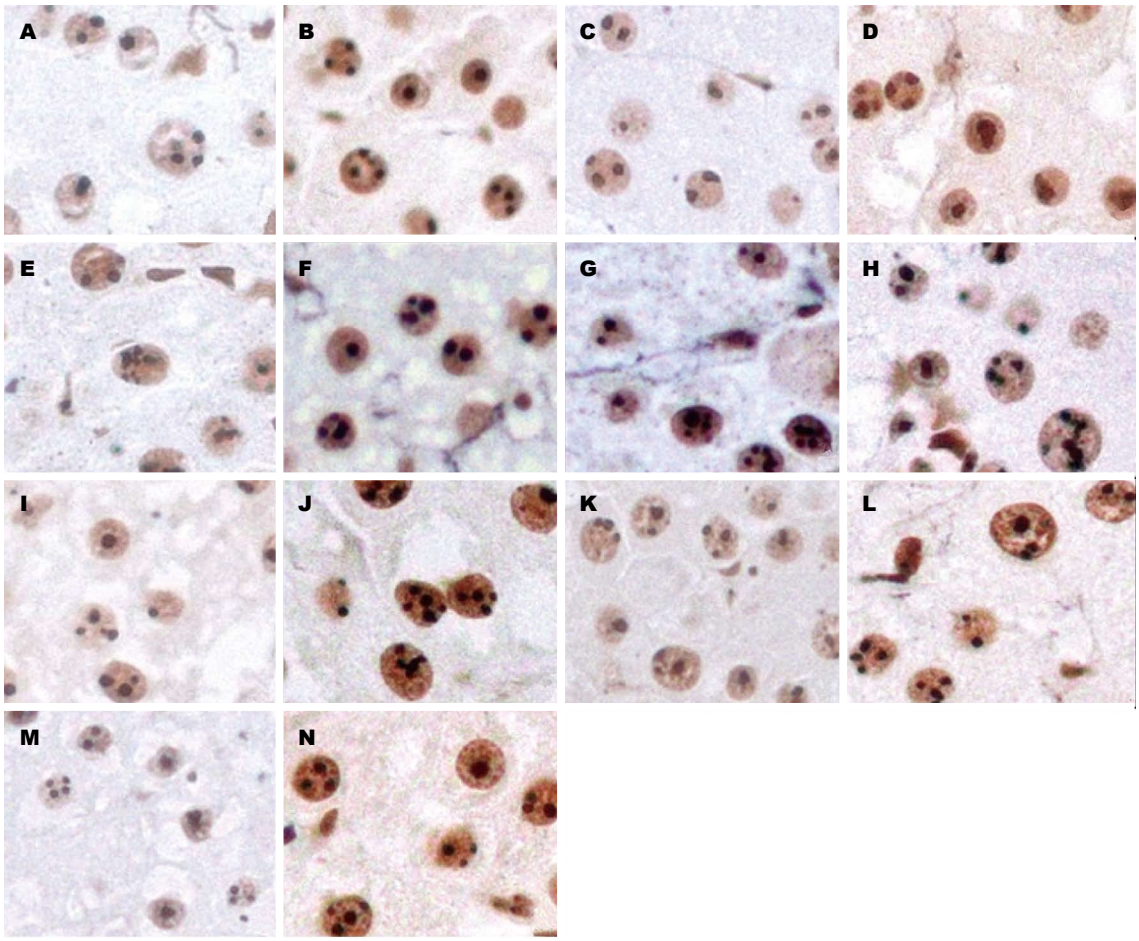


图 2 银染法显示肝细胞AgNORs(×400). A, C, E, G, I, K, M: 对照组12, 24, 36, 48, 72, 120, 168 h; B, D, F, H, J, L, N: 实验组12, 24, 36, 48, 72, 120, 168 h.

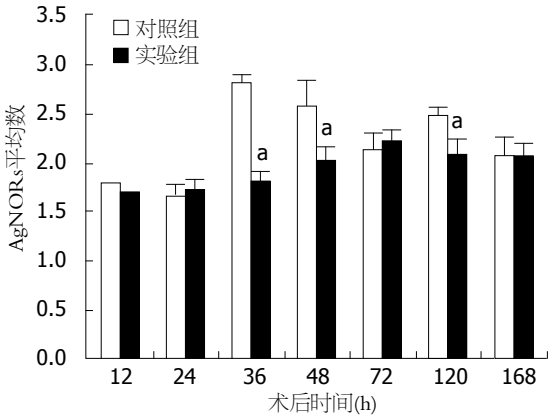


图 3 肝细胞AgNORs平均数的比较. $^aP<0.05$ *vs* 对照组.

降、增殖能力降低. 该结果提示去肝交感神经可能抑制肝部分切除后肝的再生. 另外, 免疫组织化学结果显示, 实验组大鼠肝细胞PCNA的表达从24-168 h均明显低于对照组, 表明实验组大鼠肝细胞DNA的合成能力下降, 该结果也提示去肝交感神经可能抑制肝部分切除后肝的再生. 这与Michalopoulos等[5]和夏锋等[6]的研究结果是一致的. 从本研究中的宏观指标和微观指标的结果分析会导致得出的结论有所分歧, 但从整体的角度来看, 作者更倾向于去肝交感神经可能抑制肝部分切除后肝再生的观点[5,6]. 至于本研究中实验组大鼠肝/体质量比在术后48和168 h显著大于对照组的情况, 可能与大鼠去交感神经后对肝质量没有明显影响[4], 但会影响大鼠饮食下降、体质量下降[6], 从而导致肝/体质量比增大有关. 但具体情况如何有待于进一步研究.

4 参考文献

1 Fausto N, Campbell JS, Riehle KJ. Liver regeneration. *Hepatology* 2006; 43: S45-S53 [PMID: 16447274 DOI: 10.1002/hep.20969]
2 赵利峰, 徐存拴, 王林嵩, 章静波. 调控肝再生的基因和生长因子的研究进展. 解剖学报 2004; 35: 334-336
3 刘志刚, 钱叶本. 肝再生进程调控的研究. 医学综述 2006; 12: 332-335
4 Ohtake M, Sakaguchi T, Yoshida K, Muto T. Hepatic branch vagotomy can suppress liver regeneration in partially hepatectomized rats. *HPB Surg* 1993; 6: 277-286 [PMID: 8217924]
5 Michalopoulos GK, DeFrances MC. Liver regeneration. *Science* 1997; 276: 60-66 [PMID: 9082986]

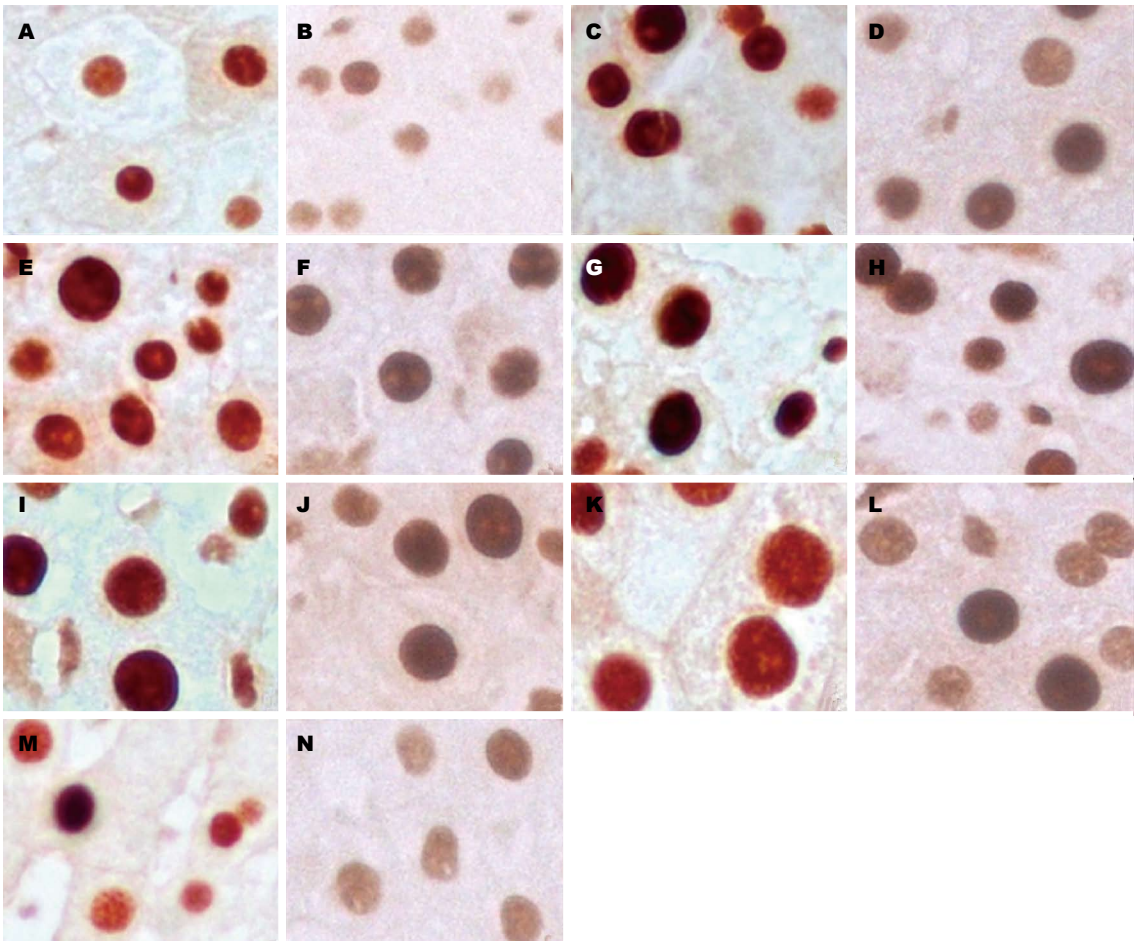


图 4 免疫组织化学法显示肝细胞PCNA表达(×400). A, C, E, G, I, K, M: 对照组12, 24, 36, 48, 72, 120, 168 h; B, D, F, H, J, L, N: 实验组12, 24, 36, 48, 72, 120, 168 h.

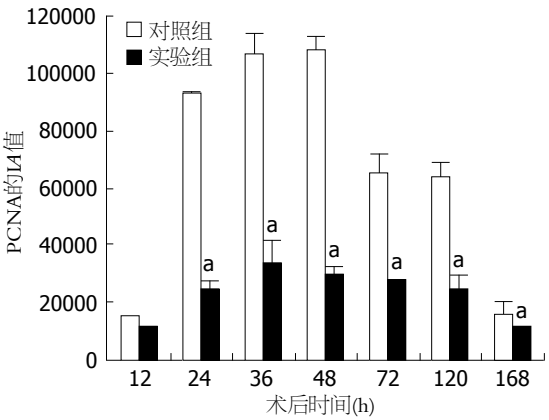


图 5 肝细胞内PCNA的表达. $^{a}P<0.05$ *vs* 对照组.

6 夏锋, 何振平, 段恒春. 去交感神经状态对肝部分切除后肝再生的影响. 第三军医大学学报 2001; 23: 416-418
7 Lautt WW, Carroll AM. Evaluation of topical phenol as a means of producing autonomic denervation of the liver. *Can J Physiol Pharmacol* 1984; 62: 849-853 [PMID: 6498614]
8 Higgins GM, Anderson RM. Experimental pathology of the liver: restoration of the liver of the white rat following partial surgical removal. *Arch Pathol* 1931; 12: 186-202
9 张文学, 荣换玲, 卢正, 苗艳艳, 刘文玲, 徐存拴. 枸杞对大鼠肝再生的影响. 河南师范大学学报(自然科学版) 2008; 11: 105-107
10 Cucchiaro G, Yamaguchi Y, Mills E, Kuhn CM, Anthony DC, Branum GD, Epstein R, Meyers WC. Evaluation of selective liver denervation methods. *Am J Physiol* 1990; 259: G781-G785 [PMID: 2240220]
11 何春, 莫维光. DNA、核仁组成区相关嗜银蛋白、增殖细胞核抗原定量分析与大肠癌的诊断. 内科 2009; 4: 255-257
12 张文学, 卢正, 王峥, 高道文, 徐存拴. 5-羟色胺4受体调节剂对肝部分切除大鼠胃肠5-羟色胺分泌和肝再生的影响. 解剖学报 2010; 41: 592-597
13 Borzio M, Trerè D, Borzio F, Ferrari AR, Bruno S, Roncalli M, Colloredo G, Leandro G, Oliveri F, Derenzini M. Hepatocyte proliferation rate is a powerful parameter for predicting hepatocellular carcinoma development in liver cirrhosis. *Mol Pathol* 1998; 51: 96-101 [PMID: 9713593]
14 Bukhari MH, Niazi S, Khan SA, Hashmi I, Perveen S, Qureshi SS, Chaudhry NA, Qureshi GR, Hasan M. Modified method of AgNOR staining for tissue and interpretation in histopathology. *Int J Exp Pathol* 2007; 88: 47-53 [PMID: 17244338 DOI: 10.1111/j.1365-2613.2006.00522.x]
15 Lorand-Metze I, Metze K. AgNOR clusters as a parameter of cell kinetics in chronic lymphocytic leukaemia. *Clin Mol Pathol* 1996; 49: M357-M360 [PMID: 16696103]

■应用要点

本研究在去肝交感神经合并部分肝切除大鼠模型上观察去交感神经对肝再生的影响, 探讨交感神经在肝再生中可能的作用, 为肝再生理论的进一步完善提供实验依据.

■同行评价
本文结果提示肝交感神经对肝切除后肝细胞的增殖可能有调节作用，立题新颖，设计合理，具有一定指导意义.

16 陈栋, 吴力群, 曹景玉. PCNA和TGF-α在肝再生动物模型中的表达及意义. 肝胆胰外科杂志 2001; 9: 143-146
17 牛兆建, 杨金镛, 吴力群. C-met和PCNA在肝再生动物模型肝脏细胞中的表达及其意义. 青岛大学医学院学报 2003; 9: 239-241
18 吴昊, 王欣, 柏桦, 胡军霞, 张涛, 廖鼐, 海春旭. 川芎嗪促进大鼠部分肝切除后修复性再生机制的研究. 现代生物医学进展 2012; 12: 2041-2045
19 Maga G, Hubscher U. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA): a dancer with many partners. *J Cell Sci* 2003; 116: 3051-3060 [PMID: 12829735 DOI: 10.1242/jcs.00653]
20 Zhu Z, Xing S, Cheng P, Li G, Yang Y, Zeng F, Lu G. The relationship of expression of bcl-2, p53, and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) to cell proliferation and apoptosis in renal cell carcinoma. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2004; 24: 354-357 [PMID: 15587397 DOI: 10.1007/BF02861866]
21 Strzalka W, Ziemienowicz A. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA): a key factor in DNA replication and cell cycle regulation. *Ann Bot* 2011; 107: 1127-1140 [PMID: 21169293 DOI: 10.1093/aob/mcq243]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》正文要求

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2013年5月28日; 21(15): 1387-1393
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

血清前白蛋白对肝功能评估的研究进展

韦丽娅, 翟永贞, 冯国和

韦丽娅, 翟永贞, 冯国和, 中国医科大学附属盛京医院感染科 辽宁省沈阳市 110022
韦丽娅, 硕士研究生, 主要从事病毒性肝炎的基础与临床研究.
作者贡献分布: 韦丽娅、翟永贞及冯国和对此文所作贡献均等; 韦丽娅与翟永贞负责执笔; 冯国和负责设计与审校.
通讯作者: 冯国和, 教授, 主任医师, 博士生导师, 110022, 辽宁省沈阳市铁西区滑翔路39号, 中国医科大学附属盛京医院感染科. fenggh@sj-hospital.org
收稿日期: 2013-01-22 修回日期: 2013-04-16
接受日期: 2013-04-27 在线出版日期: 2013-05-28

New advances in the use of serum prealbumin as an index of liver function

Li-Ya Wei, Yong-Zhen Zhai, Guo-He Feng

Li-Ya Wei, Yong-Zhen Zhai, Guo-He Feng, Department of Infectious Diseases, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110022, Liaoning Province, China
Correspondence to: Guo-He Feng, Professor, Chief Physician, Department of Infectious Diseases, Shengjing Hospital of China Medical University, 39 Huaxiang Road, Tiexi District, Shenyang 110022, Liaoning Province, China. fenggh@sj-hospital.org
Received: 2013-01-22 Revised: 2013-04-16
Accepted: 2013-04-27 Published online: 2013-05-28

Abstract
Serum prealbumin, mainly synthesized in the liver, can be used to assess the function of liver protein synthesis, reserve and nutritional status with many advantages such as convenience, accuracy and fewer interference factors; however, it is clinically used often as an independent factor, and there is little systematic, relevant and prospective research on it. Although serum prealbumin test has been used for a long time, many clinicians do not attach great importance to the characteristics of changes in serum prealbumin. In this paper, we will review new characteristics of biochemistry structure and function of serum prealbumin, and relevance between serum prealbumin and serum albumin, cholesterol, cholinesterase, total bile acids, prothrombin time, Child-Turcotte-Pugh, and model of end-stage liver stage.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Serum prealbumin; Liver function; Child-Turcotte-Pugh; Model of end-stage liver stage

Wei LY, Zhai YZ, Feng GH. New advances in the use of serum prealbumin as an index of liver function. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(15): 1387-1393 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1387.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i15.1387

摘要
血清前白蛋白(prealbumin, PA)主要由肝脏合成, 可反映肝脏合成及储备能力及营养状况, 具有检测方便、准确、干扰因素少等优点. 长期以来由于一直把血清PA以独立因素作为肝脏功能状态的评价指标, 缺乏以一种系统、关联、前瞻的临床思维方法去分析血清PA, 虽然临床应用由来已久, 但是广大临床医生在肝病的诊治过程中仍不足以重视血清PA的变化特点, 作者结合近年来对血清PA生化特性、结构、功能新变化以及与血清白蛋白、胆固醇、胆碱酯酶、总胆汁酸、凝血酶原时间、肝功能评分及终末期肝病模型评分系统等指标相关性研究作一综述.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 血清前白蛋白; 肝功能评估; 肝功能Child-Turcotte-Pugh; 终末期肝病模型

核心提示: 与血清白蛋白(albumin, ALB)相比, 血清前白蛋白(prealbumin, PA)半衰期短, 故其变化较血清ALB快且早, 更能敏感地反映早期肝脏损害. 可作为评价持续性肝损害的重要指标. 以一种关联、前瞻的临床思维方法去分析血清PA, 对广大临床医生系统评价肝脏储备功能有重要意义.

韦丽娅, 翟永贞, 冯国和. 血清前白蛋白对肝功能评估的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(15): 1387-1393 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1387.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i15.1387

0 引言
各种原因所致肝硬化、肝功失代偿以及肝功能衰竭期间肝功能储备功能评价在临床实际工作

■背景资料
肝脏储备功能评价可为因肝脏疾病是否进行手术等相关干预措施的进行提供有力保障. 血清前白蛋白(prealbumin, PA)主要由肝脏合成, 可反映肝脏合成与储备能力及营养状况. 深入阐述血清PA生化特性、结构、功能新变化以及与传统评估指标相关性研究具有理论与实际意义.

■同行评议者
姚登福, 教授, 南通大学附属医院

■研发前沿
与血清白蛋白(albumin, ALB)相比, PA可在早期快速反映肝脏合成功能及储备功能, 后续的研究展望包括对血清PA自身的生理生化代谢途径的基础研究, 扩大多中心、大样本、长期随访的血清PA临床研究, 可为血清PA在临床工作中准确意义的进一步判定奠定基础.

中尤为重要, 包括血清白蛋白(albumin, ALB)、胆固醇(cholesterol, CHO)、胆碱酯酶(cholinesterase, CHE)、总胆汁酸(total bile acids, TBA)、凝血酶原时间(prothrombin time, PT)、肝功能(Child-Turcotte-Pugh, CTP)评分及终末期肝病模型(model of end-stage liver stage, MELD)评分等诸多指标已广泛应用于临床, 为肝脏疾病是否进行手术等相关干预措施的进行提供了有力保障. 血清前白蛋白(prealbumin, PA)主要由肝脏合成, 可反映肝脏合成及储备能力及营养状况. 由于缺乏以一种系统、关联、前瞻的临床思维方法去分析血清PA, 广大临床医生在肝病的诊治过程中还不足以重视血清PA的变化特点, 作者结合近年来对血清PA生化特性、结构、功能新变化以及与前述指标相关性研究作一综述.

1 血清PA生化特点、结构功能

血清PA是一种急性时相反应蛋白, 由肝脏合成并存在于血液和脑脊液中, 因在pH 8.2缓冲液中血清PA电泳速度快于血清ALB而得名. 血清PA相对分子质量54000, 沉淀系数3.9, 其四聚体结构中含4个相同的亚单位, 每个亚单位含127个氨基酸. 血清PA是色氨酸丰富的蛋白质, 又称为转甲状腺素蛋白, 是一种血清甲状腺素和视黄醇结合蛋白的转运蛋白[1], 具有胸腺素的活性, 可修复组织, 促进淋巴细胞成熟, 提高机体免疫功能. 正常人血清PA含量为0.28-0.35 g/L, 约占全部血清蛋白的0.4%, 最终由肝脏分解并经肾脏和胃肠道排泄. 当蛋白质和热量摄入增加时, 体内血清PA增加, 反之降低.

2 血清PA与肝脏合成功能

肝脏是蛋白合成的主要场所, 在蛋白质代谢过程中起重要作用, 肝脏合成蛋白的功能一直延续到肝病晚期. 几乎所有的血清PA在肝实质细胞合成, 因此他的水平主要受肝脏营养状态的影响[2]. 肝脏对血清PA合成的控制依赖于一种与白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)同源的核转录因子. 当机体受到急性相细胞因子(如IL-6)的刺激, C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP), 血清淀粉样蛋白-A, α1-抗胰蛋白酶等正性急性时相反应蛋白的合成会增加, 此时血清PA的mRNA表达会显著下调, 导致血清PA的合成减少, 进而血清ALB和血清转铁蛋白的合成也会减少[3,4]. 少量的血清PA由脉络丛、胰腺、肾脏及视网膜合成, 但这些场所的血清PA浓度几乎不影响总的血清PA浓度[5].

3 血清PA与炎性细胞因子的关系

当机体遇到炎症(感染、自身免疫性疾病等)、外伤(包括手术)、恶性肿瘤、组织坏死等侵袭时, 会合成大量炎性细胞因子(IL和肿瘤坏死因子等). 这些炎性细胞因子最终诱导正性急性时相反应蛋白的合成, 这些蛋白包括: CRP、血清淀粉样蛋白A、降钙素原、α1-抗胰蛋白酶、α1-抗胰凝乳蛋白酶、α1-酸性糖蛋白、结合珠蛋白等; 而使其他蛋白质的合成下调和血清浓度减少, 这些蛋白质即为负性时相蛋白, 包括血清ALB、血清PA、血清转铁蛋白[6,7]. 如前所述, IL-6的调控也使负性时相蛋白合成减少并降低其血清浓度. 当患者患严重败血症或多器官受损时, 通常血清PA极低而血清CRP极高, 此时血清PA的浓度和胰岛素样生长因子-1的浓度直接成正比, 也明显降低. 在这些患者中, 胰岛素样生长因子-1/结合蛋白-3复合物的调控也导致血清PA的快速上升[8,9].

4 血清PA与肝功能评价相关指标检测联合应用

4.1 血清PA与血清ALB比较 血清ALB在肝脏合成, 是观察营养状况及肝脏损害的良好指标. 目前认为血清ALB下降是由于细胞因子如IL-6对肝细胞的调控所致[10,11], 进而明确肝硬化、肝功能衰竭患者血清ALB下降与宿主免疫功能紊乱有关, 也与肝细胞免疫损伤程度呈正相关. 血清ALB水平易受人为因素影响, 如输注外源性ALB可在短期内提高血清ALB浓度, 进而掩盖肝功能损害所致真实血清ALB水平[12]. 血清ALB半衰期19 d, 当肝脏损害不明显时, 血清ALB在一定范围内保持不变, 因为一些非营养因素可以暂时替代实际的肝脏营养缺乏, 只有当肝脏损害和病程达到一定程度后血清ALB水平才可下降[13]. 与血清ALB相比, 血清PA半衰期短, 仅1.9 d, 导致血清PA的变化较血清ALB快且早. 由于血清PA含量受蛋白质营养支持治疗等肝外因素影响小, 故其血清含量变化更能敏感地反映早期肝脏损害[14,15]. 多变量分析研究表明尽管目前血清PA降低对肝功能损害判定的精确度还不完善[16], 但是血清PA依旧可作为评价持续性肝损害的重要指标[17]. 动态观察血清PA水平可评价急性肝炎预后. 急性病毒性肝炎初期, 约有30%患者血清ALB正常而PA降低, 多数患者血清PA下降超过50%. 急性黄疸型肝炎急性期, 血

清PA值可显著降低, 其下降程度与肝细胞受损程度呈正相关. 随着疾病的恢复, 血清PA恢复至正常, 如果血清PA持续下降说明肝病有慢性化甚至重症化倾向. 大量临床观察显示, 各类慢性肝病的血清PA水平明显降低, 以肝硬化和肝功能衰竭组的血清PA降低最显著. 邱辅佑等在比较不同组肝病患者血清PA水平时发现: 轻度慢性肝炎患者血清PA的水平无明显改变, 慢性肝功能衰竭、肝炎后肝硬化组血清PA水平降低最显著, 后续依次为重度慢性肝炎、中度慢性肝炎以及急性肝炎组, 说明肝功能损害越重, 血清PA降低越明显, 而血清ALB变化程度在各型肝病严重程度的判断中不及血清PA敏感. 动态观察血清PA, 对重型肝炎、肝衰竭患者预后也有较大价值. 肝衰竭患者治疗后血清PA升高, 往往提示预后良好, 血清PA持久降低者, 提示预后险恶.

4.2 血清PA与血清CHO、CHE、TBA、PT对肝脏功能的联合评价 血清CHO在肝细胞微粒体内合成, 血浆中60%-80%的胆固醇来自肝脏, 当肝细胞严重损伤时, 由于肝内合成CHO减少, 导致血浆CHO含量明显降低. 血清CHE是肝细胞合成的一种水解酶, 是反映肝脏合成能力重要指标, 肝细胞合成功能下降时血清CHE活力可明显降低. 血清TBA是胆固醇在肝脏分解代谢的产物, 肝细胞的损伤使得肝细胞摄取胆汁酸减少, 是导致血清胆汁酸升高的主要原因, 部分肝硬化患者由于侧支循环的形成, 一些血清TBA直接经门静脉而未经肝脏进入体循环, 也可导致血清TBA进一步增高. 虽然血清TBA的检测在肝细胞急性炎症也会变化明显, 但是往往受消化系对血清TBA吸收状态等因素的影响. 血清PT一直作为反映肝细胞损害程度以及评价肝脏储备功能重要特异性指标, 全国病毒性肝炎防治方案也将凝血酶原活动度作为反映肝功能损害程度以及肝功能衰竭的主要参考指标. 虽然上述系列指标至今作为肝脏储备功能重要评价指标, 但是对肝脏储备功能的早期评价目前仍待完善. 为了做到早期、敏感地全面评估肝功能损害程度, 有必要将血清PA动态检测应用到上述检测体系当中, 以便及时采取综合治疗方案, 有报道认为当肝功能衰竭患者血清PA<100 mg/L、血清TBA>30 μmol/L, 血清CHO<2.5 μmol/L、血清PT<40%时, 提示患者预后不佳, 说明上述指标结合血清PA的检测对肝功能衰竭患者病情严重程度及预后判断有着重要的临床意义[18].

4.3 血清PA检测对CTP评分的补充 国际上常用CTP分级法来评估肝硬化、肝功能衰竭患者的肝病严重程度和判断预后. CTP评分, 包含血清PT、血清TBil、血清ALB和肝性脑病及腹水程度等因素. ALB降低和PT延长提示存在明显的肝功能损害, 而腹水和肝性脑病提示存在肝功能衰竭和严重的门静脉高压症[19]. 近期研究表明, 传统的CTP评分存在局限性, 诸如并未对所有的指标给予正确权重, 导致不同肝病患者即使CTP分值相同但预后评估误差很大. 由于ALB、PT在实验室内部与实验室之间基于检测方法或所选试剂的不同会导致结果差异, 再加外源性因素的影响, 因此干扰了最终结果的可比性; 肝脏自身的营养状态也对CTP评分有影响等等. 部分择期行肝切除术的患者术前肝功能损害轻微, Child-Pugh分级在A级, 但术后仍出现肝功能衰竭, 说明CTP评分所选参数仍无法精确描述肝功能损害程度[20,21]. 血清PA是一个反映肝脏营养状况的重要指标, 可体现加强营养治疗后肝脏营养状况的改善状况, 具有受外源性因素影响小的特点. Tomášek等[22]研究发现肝硬化患者血清PA随着肝脏实质性损害程度加重而降低, Chang等[23]研究显示, 肝硬化患者CTP评分高, 但血清PA值下降明显者, 术后预后极差. Zhao等[24]研究认为, 血清PA可作为常规肝功能评分系统的补充因素, 与CTP评分联合应用评价肝功能损害程度, 可使CTP评分更精确、更灵敏, 并早期判断出肝脏的营养状态. 当发现择期行肝切除术的Child-Pugh分级A级患者PA明显降低时, 应考虑到先期内科综合治疗, 并慎重决定能否行肝切除术.

4.4 血清PA检测对MELD评分的完善 MELD评分系统是一个前瞻性的验证终末期肝脏疾病严重程度的评分系统[25]. 该评分系统基于3个变量, 包括血清总胆红素、血清肌酐、国际标准化比值(INR)以及血清PT等. 与CTP评分相比的主要优势在于: MELD评分建立在大量统计学数据基础之上, 具有连续性特点, 增加了结果的精确性与客观性, 可对病情的严重程度作出细致划分[26-28]; 肝肾综合征是肝硬化患者的晚期严重并发症, MELD评分通过对血清肌酐指标检测兼顾到了肾脏因素的影响; 因此自2002年以来, 美国器官共享网络使用MELD评分取代以前的CTP评分评估肝移植治疗肝脏器官分配的优先权[29]. 但MELD评分仍存在缺陷: 诸如组织凝血活酶来源不同, 致使血清PT变化很大, 影响了结果的可比

■相关报道
本文分析了评价肝脏储备功能的传统指标特点, 尤其以一种系统、关联、前瞻的临床思维方法对血清PA生化特性、结构、功能新变化以及与前述指标相关性研究作了深入阐述. 为临床医生在实际工作中掌握肝脏储备功能评价新特点提供理论参考.

■创新盘点

血清PA对肝功能衰竭、肝硬化以及肝功能失代偿等患者预后有早期评估作用.对营养不良,危重病预后的评估也具有指导意义. 血清PA与血清ALB等肝脏储备功能传统评价指标的联合应用,可成为系统评价肝功能和肝脏长期营养状况的有效方法.

性; 肝硬化门脉高压并发症因素没被纳入MELD评分中. MELD评分结果仍受胆道疾病、肾脏疾病、器官灌注以及输血、低钠血症、血脂等多因素影响, 仍不能全面反映肝脏功能的实际损害程度, 所以肝硬化患者的预测死亡率与真实情况仍有15%-20%的误差[30]. 血清PA与MELD评分联合应用, 可敏感准确地反映肝脏功能损害的程度及肝脏储备功能的变化, 可以减少肝外因素造成的MELD评分的波动, 对肝脏储备功能的评估和肝衰竭患者的预后判断具有重要价值[31]. 朱哲等[32]分析了80例准备接受脾切除+贲门周围血管离断术乙型肝炎后肝硬化门脉高压患者血清PA水平, 发现术后出现肝衰竭的患者较术前血清PA水平明显降低(PA值<100 mg/L), 而MELD评分却≥9分; 血清PA与MELD评分联合应用判断术后肝衰竭的敏感性可由69.6%提高到82.4%, 说明单纯应用MELD评分评价肝脏储备功能以及肝病预后仍存在局限性. Liu等[12]将MELD评分与血清PA相结合, 以MELD评分 = 18, PA = 70 mg/L为临界值, 对252例失代偿期肝硬化患者分别进行了3、6 mo以及1年的随访研究, 并绘制Kaplan-Meier生存曲线, 结果表明血清PA联合MELD评分对肝硬化失代偿期患者生存率评价的精确性明显优于单独应用MELD评分.

5 血清PA的其他应用

血清PA可反映人体脏器蛋白质状况, 其血清中的浓度与营养状况的早期变化密切相关, 是高灵敏度和高特异性的营养评估工具. 血清PA具有半衰期短、代谢迅速、特异性和敏感性强的特点, 是评价和监测患者营养状态的金标准[33-35]. 大量的研究表明, 低血清PA及低血清ALB水平与预后较差的全身性疾病及机体营养状况相关[36,37]. 血清PA在肾功能衰竭透析患者中是一个反映营养和生存率的高度敏感指标[38], 国际肾脏与营养代谢协会建议, 将血清PA与血清ALB、血清CHO联合应用评估肾病患者的营养状况[39]. 当急性肾功能衰竭诊断明确时, 血清PA值升高并伴有较高水平的CRP, 提示预后较差, 需要积极采取必要的干预措施, 以免出现并发症[40]. 基线水平的血清PA可能对长期维持性血液透析患者的死亡率预测有显著意义[41], 最近Dalrymple等[42]研究表明血清PA联合血清ALB检测对评估肾病透析患者的生存率, 结果更为精确.

血清PA是负的急性期反应物, 与基础疾病的严重程度相关[43-45], 有报道称血清PA与危重症患者的死亡率明显相关. 临床研究表明, 血清PA为ICU患者营养不良的早期识别与干预提供重要依据, 儿童在血清PA明显降低的48小时内补充血清ALB, 严重的蛋白质营养不良可恢复到正常[46]. 重症胰腺炎的患者血清PA水平降低, 重症组中死亡者血清PA呈进行性下降. 重症肺部感染患者血清PA水平下降, 炎症控制后可得到恢复; 急性有机磷农药中毒患者血清PA水平下降越明显, 病情越重. 全身炎症反应综合征患者血清PA水平下降与多脏器功能衰竭呈正相关. 血清PA水平有利于判断上述患者疗效和预后. 已有研究表明血清PA在各种癌症中作为预后不良的指标[47,48]. 血清PA与住院患者发生院内感染的严重程度呈负相关, 而血清ALB与感染没有直接的相关性[49,50]. 高水平的血清PA提示脑梗塞患者预后良好[51], 目前还不清楚是否提供足够的热量或增加血清PA可减轻炎症的程度[52].

6 影响因素

尽管血清PA干扰因素较少, 临床应用时, 仍有一些情况需要注意: (1)外源性糖皮质激素或促蛋白合成类固醇、非甾体类抗炎药、胰岛素样生长因子-1可使PA升高[53]; (2)当有持续性炎症时, 如控制不佳的心血管疾病时, 血清PA下降并不敏感; (3)多变量分析表明, 炎症可能混淆PA和营养不良之间的关系[54]; (4)肝衰竭患者大量输入血浆, 血清PA可增长; (5)某些形式的营养不良, 诸如神经性厌食症及维生素A缺乏症等, 血清PA可在正常范围; (6)血清PA可受年龄及性别因素影响, 儿童的血清PA较高, 女性的血清PA较男性低; (7)血管通透性增加;腹水或胸水;急性血液稀释, 血清PA可下降; 体位改变时血清PA也可改变; (8)实验室存在的15%-20%的误差也影响血清PA的结果.

7 结论

与血清ALB相比, 血清PA可在早期快速反映肝脏合成功能及储备功能, 尤其对肝功能衰竭、肝硬化以及肝功能失代偿等患者预后有早期评估作用; 对营养不良, 危重病预后的评估也体现了一定作用. 然而, 血清PA无法代替血清ALB作为独立因素分析疾病进展状况, 因为血清PA易受急慢性炎症及营养不良的共同影响, 在慢性病程中若单独以血清PA评价患者是否应该进行营养支持治疗, 蛋白质-能量是否供给平衡, 结果仍不准确. 现有的研究都属回顾性研究, 存在

所研究的患者病程短, 样本数量少、各种疾病基线水平不同等缺点, 增加多中心、大样本、长期随访的临床研究, 对血清PA自身的生理生化代谢途径的基础研究, 将为血清PA在临床工作中准确意义的判定奠定基础. 血清PA与血清ALB等肝功能判定指标的联合应用, 将会成为监测肝功能和肝脏长期营养状况的有效方法.

8 参考文献

1 Weinman AR, Jorge SM, Martins AR, de Assis Md, Martinez FE, Camelo JS. Assessment of vitamin A nutritional status in newborn preterm infants. *Nutrition* 2007; 23: 454-460 [PMID: 17499971 DOI: 10.1016/j.nut.2007.04.003]

2 Caccialanza R, Palladini G, Klersy C, Cereda E, Bonardi C, Quarleri L, Vadacca G, Albertini R, Merlini G. Serum prealbumin: an independent marker of short-term energy intake in the presence of multiple-organ disease involvement. *Nutrition* 2013; 29: 580-582 [PMID: 23298969 DOI: 10.1016/j.nut.2012.08.007]

3 Huang L, Li J, Yan JJ, Liu CF, Wu MC, Yan YQ. Prealbumin is predictive for postoperative liver insufficiency in patients undergoing liver resection. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 7021-7025 [PMID: 23323003 DOI: 10.3748/wjg.v18.i47.7021]

4 Mizuguchi T, Kawamoto M, Meguro M, Hui TT, Hirata K. Preoperative liver function assessments to estimate the prognosis and safety of liver resections. *Surg Today* 2013 Mar 9. *[Epub ahead of print]* [PMID: 23474700 DOI: 10.1007/s00595-013-0534-4]

5 Rocha JC, Almeida MF, Carmona C, Cardoso ML, Borges N, Soares I, Salcedo G, Lima MR, Azevedo I, van Spronsen FJ. The use of prealbumin concentration as a biomarker of nutritional status in treated phenylketonuric patients. *Ann Nutr Metab* 2010; 56: 207-211 [PMID: 20215742 DOI: 10.1159/000276641]

6 Kato A, Takita T, Furuhashi M, Maruyama Y, Hishida A. Comparison of serum albumin, C-reactive protein and carotid atherosclerosis as predictors of 10-year mortality in hemodialysis patients. *Hemodial Int* 2010; 14: 226-232 [PMID: 20345387 DOI: 10.1111/j.1542-4758.2009.00432.x]

7 Dashti N, Einollahi N, Nabatchian F, Moradi Sarabi M, Zarebavani M. Significance of albumin and C-reactive protein variations in 300 end stage renal disease patients in Tehran University of Medical Sciences Hospitals during year 2010. *Acta Med Iran* 2012; 50: 197-202 [PMID: 22418989]

8 Harriman S, Rodych N, Hayes P, Moser MA. The C-reactive protein-to-prealbumin ratio predicts fistula closure. *Am J Surg* 2011; 202: 175-178 [PMID: 21601827 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2010.06.021]

9 Zhang K, Liu L, Cheng X, Dong J, Geng Q, Zuo L. Low levels of vitamin C in dialysis patients is associated with decreased prealbumin and increased C-reactive protein. *BMC Nephrol* 2011; 12: 18 [PMID: 21548917 DOI: 10.1186/1471-2369-12-18]

10 Gupta D, Lis CG. Pretreatment serum albumin as a predictor of cancer survival: a systematic review of the epidemiological literature. *Nutr J* 2010; 9: 69 [PMID: 21176210 DOI: 10.1186/1475-2891-9-69]

11 Aguilar-Nascimento JE, Marra JG, Slhessarenko N, Fontes CJ. Efficacy of National Nosocomial Infection Surveillance score, acute-phase proteins, and interleukin-6 for predicting postoperative infections following major gastrointestinal surgery. *Sao Paulo Med J* 2007; 125: 34-41 [PMID: 17505683 DOI: 10.1590/S1516-31802007000100007]

12 Liu F, Cai LY, Zhong L, Chen C, Xu F, Zhao ZX, Chen XM. Model for end-stage liver disease combined with serum prealbumin to predict the prognosis of patients with decompensated liver cirrhosis. *J Dig Dis* 2010; 11: 352-357 [PMID: 21091897 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2010.00465.x]

13 Tominaga N, Shimoda R, Iwakiri R, Tsuruoka N, Sakata Y, Hara H, Hayashi S, Morita S, Hamasaki Y, Matsushima T, Miyazaki K, Node K, Fujimoto K. Low serum albumin level is risk factor for patients with percutaneous endoscopic gastrostomy. *Intern Med* 2010; 49: 2283-2288 [PMID: 21048361]

14 Geisler JP, Linnemeier GC, Thomas AJ, Manahan KJ. Nutritional assessment using prealbumin as an objective criterion to determine whom should not undergo primary radical cytoreductive surgery for ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2007; 106: 128-131 [PMID: 17466363 DOI: 10.1016/j.ygyno.2007.03.008]

15 Hou M, Sun S, Jiang Z. A new and selective and sensitive nanogold-labeled immunoresoance scattering spectral assay for trace prealbumin. *Talanta* 2007; 72: 463-467 [PMID: 19071641 DOI: 10.1016/j.talanta.2006.11.016]

16 Fujii T, Sutoh T, Morita H, Katoh T, Yajima R, Tsutsumi S, Asao T, Kuwano H. Serum albumin is superior to prealbumin for predicting short-term recurrence in patients with operable colorectal cancer. *Nutr Cancer* 2012; 64: 1169-1173 [PMID: 23163845 DOI: 10.1080/01635581.2012.718034]

17 Tajiri K, Shimizu Y. Practical guidelines for diagnosis and early management of drug-induced liver injury. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 6774-6785 [PMID: 19058303 DOI: 10.3748/wjg.14.6774]

18 Lin MY, Liu WY, Tolan AM, Aboulian A, Petrie BA, Stabile BE. Preoperative serum albumin but not prealbumin is an excellent predictor of postoperative complications and mortality in patients with gastrointestinal cancer. *Am Surg* 2011; 77: 1286-1289 [PMID: 22127071]

19 Ishizawa T, Hasegawa K, Kokudo N, Sano K, Imamura H, Beck Y, Sugawara Y, Makuuchi M. Risk factors and management of ascites after liver resection to treat hepatocellular carcinoma. *Arch Surg* 2009; 144: 46-51 [PMID: 19153324 DOI: 10.1001/archsurg.2008.511]

20 Schroeder RA, Marroquin CE, Bute BP, Khuri S, Henderson WG, Kuo PC. Predictive indices of morbidity and mortality after liver resection. *Ann Surg* 2006; 243: 373-379 [PMID: 16495703 DOI: 10.1097/01.sla.0000201483.95911.08]

21 Seyama Y, Kokudo N. Assessment of liver function for safe hepatic resection. *Hepatol Res* 2009; 39: 107-116 [PMID: 19208031 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2008.00441.x]

22 Tomášek J, Prášek J, Kiss I, Husová L, Podhorec J. [Liver function assessment in oncology practice]. *Klin Onkol* 2012; 25: 427-433 [PMID: 23301644]

23 Chang WT, Ker CG, Hung HC, Lee KT, Chen LS, Chiang HC, Huang MC. Albumin and prealbumin may predict retinol status in patients with liver cirrhosis. *Hepatogastroenterology* 2008; 55: 1681-1685 [PMID: 19102369]

■名词解释

转甲状腺素蛋白: 一种血清甲状腺素和视黄醇结合蛋白的转运蛋白, 具有胸腺素的活性, 可修复组织, 促进淋巴细胞成熟, 提高机体免疫功能.

■同行评价
本文为血清PA在临床工作中准确意义的进一步判定提供了理论依据, 也为广大临床医生在实际工作中较系统掌握肝脏储备功能评价新特点提供了重要参考.

24 Zhao WC, Zhang HB, Yang N, Fu Y, Qian W, Chen BD, Fan LF, Yang GS. Preoperative predictors of short-term survival after hepatectomy for multinodular hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 3272-3281 [PMID: 22783052 DOI: 10.3748/wjg.v18.i25.3272]

25 Martin AP, Bartels M, Hauss J, Fangmann J. Overview of the MELD score and the UNOS adult liver allocation system. *Transplant Proc* 2007; 39: 3169-3174 [PMID: 18089345]

26 Wang YW, Huo TI, Yang YY, Hou MC, Lee PC, Lin HC, Lee FY, Chi CW, Lee SD. Correlation and comparison of the model for end-stage liver disease, portal pressure, and serum sodium for outcome prediction in patients with liver cirrhosis. *J Clin Gastroenterol* 2007; 41: 706-712 [PMID: 17667056 DOI: 10.1097/MCG.0b013e31802dabb3]

27 Bambha K, Kim WR, Pedersen R, Bida JP, Kremers WK, Kamath PS. Predictors of early re-bleeding and mortality after acute variceal haemorrhage in patients with cirrhosis. *Gut* 2008; 57: 814-820 [PMID: 18250126 DOI: 10.1136/gut.2007.137489]

28 Al Sibae MR, Cappell MS. Accuracy of MELD scores in predicting mortality in decompensated cirrhosis from variceal bleeding, hepatorenal syndrome, alcoholic hepatitis, or acute liver failure as well as mortality after non-transplant surgery or TIPS. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 977-987 [PMID: 20844956 DOI: 10.1007/s10620-010-1390-3]

29 Leise MD, Kim WR, Kremers WK, Larson JJ, Benson JT, Therneau TM. A revised model for end-stage liver disease optimizes prediction of mortality among patients awaiting liver transplantation. *Gastroenterology* 2011; 140: 1952-1960 [PMID: 21334338 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.02.017]

30 Jiang M, Liu F, Xiong WJ, Zhong L, Chen XM. Comparison of four models for end-stage liver disease in evaluating the prognosis of cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 6546-6550 [PMID: 19030210 DOI: 10.3748/wjg.14.6546]

31 Jiang M, Liu F, Xiong WJ, Zhong L, Xu W, Xu F, Liu YB. Combined MELD and blood lipid level in evaluating the prognosis of decompensated cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 1397-1401 [PMID: 20238407 DOI: 10.3748/wjg.v16.i11.1397]

32 朱哲, 刘菲, 尤天庚, 周主青, 杨永康, 刘斌, 高富存, 赵中辛. 血清前白蛋白检测评价肝功能损害的临床应用. 中华实验外科杂志 2010; 27: 1735-1737

33 Shenkin A. Serum prealbumin: Is it a marker of nutritional status or of risk of malnutrition? *Clin Chem* 2006; 52: 2177-2179 [PMID: 17138848 DOI: 10.1373/clinchem.2006.077412]

34 Devoto G, Gallo F, Marchello C, Racchi O, Garbarini R, Bonassi S, Albalustri G, Haupt E. Prealbumin serum concentrations as a useful tool in the assessment of malnutrition in hospitalized patients. *Clin Chem* 2006; 52: 2281-2285 [PMID: 17068165 DOI: 10.1373/clinchem.2006.080366]

35 王岩, 翟永贞, 冯国和. 肝衰竭的营养代谢异常与营养支持治疗的研究进展. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2167-2172

36 Stolic RV, Trajkovic GZ, Peric VM, Stolic DZ, Sovtic SR, Aleksandar JN, Subaric-Gorgieva GDj. Impact of metabolic syndrome and malnutrition on mortality in chronic hemodialysis patients. *J Ren Nutr* 2010; 20: 38-43 [PMID: 19464925 DOI: 10.1053/j.jrn.2009.01.021]

37 Ben-Ishay O, Gertsenzon H, Mashiach T, Kluger Y, Chermesh I. Malnutrition in surgical wards: a plea for concern. *Gastroenterol Res Pract* 2011; 2011: 840512 [PMID: 20811544 DOI: 10.1155/2011/840512]

38 Chrysostomou S, Stathakis C, Petrikkos G, Daikos G, Gompou A, Perrea D. Assessment of prealbumin in hemodialysis and renal-transplant patients. *J Ren Nutr* 2010; 20: 44-51 [PMID: 19733093 DOI: 10.1053/j.jrn.2009.04.001]

39 Fouque D, Kalantar-Zadeh K, Kopple J, Cano N, Chauveau P, Cuppari L, Franch H, Guarnieri G, Ikizler TA, Kaysen G, Lindholm B, Massy Z, Mitch W, Pineda E, Stenvinkel P, Treviño-Becerra A, Wanner C. A proposed nomenclature and diagnostic criteria for protein-energy wasting in acute and chronic kidney disease. *Kidney Int* 2008; 73: 391-398 [PMID: 18094682 DOI: 10.1038/sj.ki.5002585]

40 Xie Q, Zhou Y, Xu Z, Yang Y, Kuang D, You H, Ma S, Hao C, Gu Y, Lin S, Ding F. The ratio of CRP to prealbumin levels predict mortality in patients with hospital-acquired acute kidney injury. *BMC Nephrol* 2011; 12: 30 [PMID: 21714897 DOI: 10.1186/1471-2369-12-30]

41 Rambod M, Kovesdy CP, Bross R, Kopple JD, Kalantar-Zadeh K. Association of serum prealbumin and its changes over time with clinical outcomes and survival in patients receiving hemodialysis. *Am J Clin Nutr* 2008; 88: 1485-1494 [PMID: 19064507 DOI: 10.3945/ajcn.2008.25906]

42 Dalrymple LS, Johansen KL, Chertow GM, Grimes B, Anand S, McCulloch CE, Kaysen GA. Longitudinal measures of serum albumin and prealbumin concentrations in incident dialysis patients: the comprehensive dialysis study. *J Ren Nutr* 2013; 23: 91-97 [PMID: 22633987 DOI: 10.1053/j.jrn.2012.03.001]

43 Myron Johnson A, Merlini G, Sheldon J, Ichihara K. Clinical indications for plasma protein assays: transthyretin (prealbumin) in inflammation and malnutrition. *Clin Chem Lab Med* 2007; 45: 419-426 [PMID: 17378745 DOI: 10.1515/CCLM.2007.051]

44 Perez Valdivieso JR, Bes-Rastrollo M, Monedero P, de Irala J, Lavilla FJ. Impact of prealbumin levels on mortality in patients with acute kidney injury: an observational cohort study. *J Ren Nutr* 2008; 18: 262-268 [PMID: 18410882 DOI: 10.1053/j.jrn.2007.11.003]

45 Devakonda A, George L, Raoof S, Esan A, Saleh A, Bernstein LH. Transthyretin as a marker to predict outcome in critically ill patients. *Clin Biochem* 2008; 41: 1126-1130 [PMID: 18655780 DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2008.06.016]

46 Lai CC, You JF, Yeh CY, Chen JS, Tang R, Wang JY, Chin CC. Low preoperative serum albumin in colon cancer: a risk factor for poor outcome. *Int J Colorectal Dis* 2011; 26: 473-481 [PMID: 21190025 DOI: 10.1007/s00384-010-1113-4]

47 Morgan TM, Tang D, Stratton KL, Barocas DA, Anderson CB, Gregg JR, Chang SS, Cookson MS, Herrell SD, Smith JA, Clark PE. Preoperative nutritional status is an important predictor of survival in patients undergoing surgery for renal cell carcinoma. *Eur Urol* 2011; 59: 923-928 [PMID: 21295907 DOI: 10.1016/j.eururo.2011.01.034]

48 Oñate-Ocaña LF, Aiello-Crocifoglio V, Gallardo-Rincón D, Herrera-Goepfert R, Brom-Valladares R, Carrillo JF, Cervera E, Mohar-Betancourt A. Serum albumin as a significant prognostic factor for patients with gastric carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2007; 14:

381-389 [PMID: 17160496 DOI: 10.1245/s10434-006-9093-x]
49 Bae HJ, Lee HJ, Han DS, Suh YS, Lee YH, Lee HS, Cho JJ, Kong SH, Yang HK. Prealbumin levels as a useful marker for predicting infectious complications after gastric surgery. *J Gastrointest Surg* 2011; 15: 2136-2144 [PMID: 21989582 DOI: 10.1007/s11605-011-1719-z]
50 舒宏, 康晓楠, 刘银坤. 肝癌转移、复发预测的蛋白质分子标志物. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1350-1355
51 Gao C, Zhang B, Zhang W, Pu S, Yin J, Gao Q. Serum prealbumin (transthyretin) predict good outcome in young patients with cerebral infarction. *Clin Exp Med* 2011; 11: 49-54 [PMID: 20535523 DOI: 10.1007/s10238-010-0103-8]
52 Davis CJ, Sowa D, Keim KS, Kinnare K, Peterson S. The use of prealbumin and C-reactive protein for monitoring nutrition support in adult patients receiving enteral nutrition in an urban medical center. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2012; 36: 197-204 [PMID: 21799187 DOI: 10.1177/0148607111413896]
53 撒忠秋, 秦建民, 倪雷. 蛋白质组学在肝癌发生机制及诊治中的作用. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1521-1524
54 Dennis RA, Johnson LE, Roberson PK, Heif M, Bopp MM, Cook J, Sullivan DH. Changes in prealbumin, nutrient intake, and systemic inflammation in elderly recuperative care patients. *J Am Geriatr Soc* 2008; 56: 1270-1275 [PMID: 18547360 DOI: 10.1111/j.1532-5415.2008.01789.x]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

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

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873

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

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

世界华人消化杂志 2013年5月28日; 21(15): 1394-1399
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

选择性Cox-2抑制剂治疗胰腺癌的研究进展

李 佳, 刘志明

■背景资料
胰腺癌(pancreatic cancer, PC)的病因和发病机制至今不明, 治疗面临着巨大的困难, 是一个世界性的难题. 大量研究表明, Cox-2在PC和多种肿瘤中高表达, 与肿瘤的发生、发展、分化、转移及预后密切相关, 选择性Cox-2抑制剂在体内和体外都有抗肿瘤的作用.

李佳, 刘志明, 广西医科大学第一附属医院胃肠和腺体外科 广西壮族自治区南宁市 530021
李佳, 在读硕士, 主要从事普通外科疾病的基础与临床研究.
作者贡献分布: 刘志明与李佳对此文所作贡献均等; 本文思路由刘志明设计; 论文写作由李佳完成; 刘志明审校.
通讯作者: 刘志明, 教授, 主任医师, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路22号, 广西医科大学第一附属医院胃肠和腺体外科. liuzhiminggy@163.com
电话: 0771-5356738
收稿日期: 2013-03-20 修回日期: 2013-04-23
接受日期: 2013-04-27 在线出版日期: 2013-05-28

Selective COX-2 inhibitors for treatment of pancreatic cancer: Research progress

Jia Li, Zhi-Ming Liu

Jia Li, Zhi-Ming Liu, Department of Gastrointestinal and Gland Surgery, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Nationality Autonomous Region, China
Correspondence to: Zhi-Ming Liu, Professor, Chief Physician, Department of Gastrointestinal and Gland Surgery, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 22 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Nationality Autonomous Region, China. liuzhiminggy@163.com
Received: 2013-03-20 Revised: 2013-04-23
Accepted: 2013-04-27 Published online: 2013-05-28

Abstract
Cyclooxygenase-2 (COX-2) is highly expressed in pancreatic cancer and closely related to the occurrence, development, differentiation, metastasis and prognosis of this malignancy. Selective COX-2 inhibitors have anti-tumor effects both *in vivo* and *in vitro*. In this paper we review the recent progress in research on the molecular characteristics of COX-2, the relationship between COX-2 and pancreatic cancer, and the use of selective COX-2 inhibitors for the treatment of pancreatic cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Cyclooxygenase-2; Pancreatic cancer; Selective COX-2 inhibitors

Li J, Liu ZM. Selective COX-2 inhibitors for treatment of pancreatic cancer: Research progress. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(15): 1394-1399 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1394.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i15.1394

摘要
环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, Cox-2)在胰腺癌(pancreatic cancer, PC)中高表达, 与PC的发生、发展、分化、转移及预后密切相关, 选择性Cox-2抑制剂在体内和体外都有抗肿瘤的作用. 本文就Cox-2的分子生物学特性、Cox-2与PC的关系以及选择性Cox-2抑制剂治疗PC的研究进展作一综述.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 环氧合酶-2; 胰腺癌; 选择性Cox-2抑制剂

核心提示: 本文综述了环氧合酶-2(Cyclooxygenase-2, Cox-2)及其选择性抑制剂与胰腺癌(pancreatic cancer, PC)的研究新进展, 并重点阐述了选择性Cox-2抑制剂在PC治疗中的作用和临床疗效, 提出了自己的观点和需要进一步研究并解决的问题.

李佳, 刘志明. 选择性Cox-2抑制剂治疗胰腺癌的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(15): 1394-1399 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1394.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i15.1394

0 引言
胰腺癌(pancreatic cancer, PC)是一种主要来源于胰腺导管上皮细胞的恶性肿瘤, 其发病率近年来呈上升趋势. PC的主要特点是早期诊断困难, 易发生转移, 手术切除率低, 预后极差, 5年生存率仅1%-4%[1]. 目前, 外科手术仍然是主要的治疗手段, 化疗首选吉西他滨, 放疗有助于改善临床症状和控制局部复发, 但效果均不理想, 且不良反应大, 不能较好的提高患者的生存质量. PC的病因和发病机制至今不明, 在治疗方面也面临着巨大的困难, 是一个世界性的难题. 大量研究表明, 环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, Cox-2)在PC和多种肿瘤中高表达, 与肿瘤的发生、发展、分化、转移及预后密切相关[2-4], 选择性Cox-2抑制

■同行评议者
李淑德, 教授, 中国人民解放军第二军医大学长海医院消化内科; 吴泰璜, 教授, 山东省立医院肝胆外科

剂在体内和体外都有着抗肿瘤的作用[5,6]. Cox-2是治疗PC一个较好的靶点, 其与肿瘤的关系仍是当前研究的热点. 本文主要总结近年来Cox-2及其选择性抑制剂与PC的研究新进展, 并重点阐述选择性Cox-2抑制剂在PC治疗中的作用.

1 Cox-2的分子生物学特性

Cox是人体将花生四烯酸(arachidonic acid, AA)转化为血栓素A2(thromboxane A2, TXA2)和前列腺素(prostaglandin, PG)过程中的关键酶, 是一种完整的膜结合蛋白. Cox主要有Cox-1和Cox-2两种同工酶, 他们在氨基酸序列上有60%的同源性[7], 具有相同的酶活性, 但具有不同的生物学功能. *Cox-1*是一种结构基因, 又被称为“管家基因”, 在许多细胞组织中持续、稳定地表达, 具有保护胃黏膜、调节肾血流、控制血小板聚集等生理作用, 而*Cox-2*基因属于诱导表达基因, 又称为“快速反应基因”, Cox-2 mRNA及其蛋白质在正常组织细胞内几乎检测不到, 但在炎症介质、生长因子、促癌剂等内外因素作用后可迅速达到很高水平[8]. 人类的*Cox-2*基因位于1号染色体1q25.2-25.3上, 含有10个外显子和9个内含子, 长约8.3 kb, 其转录产物mRNA为4.5 kb, Cox-2蛋白定位于内质网与核膜上.

Cox-2同时具有环氧化酶和过氧化酶活性, 可以形成氧化自由基催化多环芳香烃类化合物形成亲电性的氧化物, 造成遗传物质DNA损伤导致肿瘤的发生. 此外, Cox-2大量表达对细胞膜和线粒体的氧化损伤也是诱发肿瘤的重要因素. Cox-2刺激细胞增殖主要是通过其催化产物PGE2来实现的, PGE2与细胞膜上的内源性致热源(endogenous pyrogen, EP)受体EP1-EP4结合[9], 通过G2蛋白偶联途径或核内过氧化物酶增殖体激活受体(peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR)来促进细胞的生长[10].

2 Cox-2与胰腺癌的关系

2.1 *Cox-2*基因与胰腺癌 Talar-Wojnarowska等[11]对85例PC患者和116例健康人检测了-765G/C和-1195G/A *Cox-2*基因型的改变, 结果发现在53.7%的PC患者中同型-1195AA *Cox-2*基因型频率增加, 与对照组(21%)比较$P<0.01$, 提示-1195G/A *Cox-2*基因多态性在PC的形成和预后可能起重要作用. 这一研究与Xu等[12]的研究是一致的. 另一研究表明, Cox-2启动子变异与胰腺癌的易患性相关, 吸烟可特异性增加-765C启动子的活性, 其机制可能与磷酸化核仁磷酸蛋白(phosphor-nucleophosmin, p-NPM)有关[13]. 以上研究提示, *Cox-2*基因的改变可能是PC发生的始动因素之一, 检测*Cox-2*基因可能可以预测易患PC的人群, 就可以进行早期预防. 另外, PC中原癌基因的改变可能与*Cox-2*基因改变有关, 有文献报道*ras*基因可能参与了*Cox-2*基因表达上调的分子机制[14].

2.2 Cox-2在胰腺癌中的表达 Tucker等[15]采用PCR、Western blot和免疫组织化学法检测了Cox-2在PC组织中的表达, 结果发现PC组织中的Cox-2 mRNA表达水平比相邻的非癌组织增高达60倍, Cox-2蛋白在PC组织10例中有9例可以检测出来, 其主要表达在肿瘤上皮细胞内, 并首先提出Cox-2可能是防治PC的重要靶点. Molina等[16]于1999年从*Cox-2*基因转录水平研究了5种PC细胞株, 结果发现4种PC细胞株内Cox-2 mRNA水平增高, 依次为BxPC-3、Capan-1、MDAPanc-3、MDAPanc-28, 而在PANC-1细胞中, Cox-2转录水平较正常胰腺组织并不高, 提示Cox-2 mRNA表达水平与每种癌分化程度及起源强烈相关. 此后, 很多研究也都证实了Cox-2在PC中高表达[17-19], 但也有呈阴性表达或低表达的胰腺细胞株, 如MIA PaCa-2、AsPC-1.

2.3 Cox-2与胰腺癌发生和发展 研究表明Cox-2在PC的发生、发展中可能有着重要的作用, 提示Cox-2可能是防治PC较好的靶点, 但其具体机制尚不明确. Crowell等[20]研究发现, Cox-2在所有的胰腺上皮内瘤样变(pancreatic intraepithelial neoplasia, PanIN)和PC组织中表达升高, 在N-亚硝基双胺[N-nitrosobis-(2-oxopropyl)amine, BOP]诱导的仓鼠PC模型中发现Cox-2表达升高伴随肿瘤发生的整个过程. Hermanova等[21]研究发现, Cox-2在PanIN中的表达率为52.9%, 而在PC中的表达率为90%, Cox-2的表达与PC的分级无关, 但在肿瘤的发生、发展过程中与P53密切相关. Hill等[22]研究发现Cox-2的表达促进了胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)在*K-ras*基因型小鼠的早期发生和发展, 其机制是Cox-2通过PI3K/Akt通路的激活. 另外, PDAC可以不依赖Cox-2使FKBP5表达减少和GRP78的表达增加两个替代途径导致Akt的活化. 提示抗Cox-2的治疗可以延缓PDAC发展, 但必须克服通过Akt活化而增加的耐药性.

2.4 Cox-2与胰腺癌患者的预后 Cox-2的表达与PC患者的预后是否相关还存在争议. Mat-

■研发前沿

至今, 选择性Cox-2抑制剂抑制肿瘤细胞增殖和诱导细胞凋亡的机制尚未被完全认识, 有待我们进一步去探索发现. 如何提高选择性Cox-2抑制剂作为辅助治疗应用于临床的疗效?对Cox-2阴性表达或低表达的PC患者如何治疗? 这些问题亟待我们进一步研究解决.

■相关报道
Lipton等用吉西他滨、伊立替康、塞来昔布联合治疗21例未经治疗且不能手术切除的PC患者, 结果显示80%的患者存活了一年, 20%的患者存活了2年, 中位生存期为18 mo, 患者的生存质量提高了并且不良反应较轻.

subayashi等[23]对299例行胰十二指肠切除术的浸润性PC患者进行Kaplan-Meier生存分析表明, Cox-2阳性表达的患者中位生存期15 mo, 而Cox-2阴性表达患者中位生存期20 mo, Cox-2阳性表达患者的预后明显较差(log-rank, $P = 0.002$), 多因素Cox风险回归模型表明Cox-2是PC预后较差的独立预后因子. Matsumoto等[24]研究发现Cox-2的表达与肿瘤的大小(直径≥3 cm)是PC术后肝转移的密切相关因素, 但Hermanova等[25]的研究表明, 免疫组织化学法用单克隆抗体检测, Cox-2在80.5%的PC组织中表达上调, 而多克隆抗体检测只有69.4%, Kaplan-Meier生存分析表明Cox-2与总体生存率无关, 也与肿瘤分化、淋巴结转移和TNM分期无关, 免疫组织化学法检测Cox-2的表达来评估预后并不优于传统的预后因素. 这一研究与Xu等[26]的研究是一致的. 我们认为, Cox-2结合其他传统预后因素综合判断PC患者的预后可能会更好更准确.

3 选择性Cox–2抑制剂对胰腺癌的作用

3.1 *抑制细胞增殖、诱导细胞凋亡* 国内外大量研究已证实多种选择性Cox-2抑制剂在体内、体外对PC细胞均有抑制作用, 并能诱导细胞凋亡. Xu等[26]的研究表明, Cox-2抑制剂NS398或塞来昔布都能以剂量依赖性方式抑制PC PANC-l细胞增殖, 将PANC-l细胞接种于裸鼠皮下, 然后用塞来昔布喂养裸鼠, 可使裸鼠的移植瘤体积减小51.6%(P<0.01). Ambike等[27]用尼美舒利结合到含金属的希夫碱后作用于PC细胞, 发现能明显抑制BxPC-3(Cox-2阳性)和MIAPaCa-2(Cox-2阴性)两细胞株的生长, 其机制与抑制VEGF、Cox-2和凋亡抑制蛋白Bcl-2、Bc-(xl)表达有关. Huang等[28]用NS398在体外作用于PC BxPC-3细胞后, 发现能明显地诱导细胞凋亡, 其机制与NS398明显提高Caspase-3活性有关而不依赖Cox-2. Chuang等[29]的研究发现, 对Cox-2没有抑制作用的2,5-二甲基塞来昔布(2,5-dimethyl-celecoxib, DMC)在体外对PC的抑制作用反而比塞来昔布更强, 对Cox-2抑制作用较强的去甲基塞来昔布(unmethylated celecoxib, UMC)其作用比塞来昔布更差, 塞来昔布的体外抗肿瘤活性不涉及对Cox-2的抑制, 而与触发内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)有关. 至今, 选择性Cox-2抑制剂抑制肿瘤细胞增殖和诱导细胞凋亡的机制尚未被完全认识, 有待我们进一步去探索发现.

3.2 *抑制肿瘤血管生成* 血管生成是肿瘤生长和转移的前提和关键, 是肿瘤赖以生存的基础, 抑制血管生成是治疗肿瘤一个较好的策略. 肿瘤可分泌血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)直接刺激血管的生成, 在Cox-2表达或高表达的PC细胞中VEGF的生成明显增加[30]. Raut等[31]研究发现, 塞来昔布不能降低原位PC移植瘤模型的肿瘤血管生成密切相关的VEGF的水平, 但能够降低肿瘤的微血管密度(microvessel density, MVD), 并且能够以剂量依赖性提高肿瘤相关的内皮细胞的凋亡. 但Toomey等[32]研究表明, Cox-2并没有调节VEGF在PC中的基础表达, VEGF抑制剂对肿瘤微环境中血管内皮细胞活性有抑制作用, 而Cox-2抑制剂没有, 塞来昔布可通过非Cox-2途径上调VEGF表达. 因此, 在今后的临床研究中应考虑VEGF抑制剂与塞来昔布联合作为PC的姑息治疗和辅助治疗. 另有研究发现, 选择性Cox-2抑制剂虽可抑制Cox-2阳性PCBxPC-3细胞的生长和血管形成, 但对Cox-2阴性的MIAPaCa-2细胞反可促进细胞增殖和提高VEGF的表达, 促进血管生成[33]. 这一研究提示, Cox-2抑制剂治疗Cox-2阴性表达的PC患者可能存在限制, 如何解决这一问题, 还有待进一步研究.

3.3 *抑制肿瘤细胞侵袭和转移* 细胞外基质(extracellular matrix, ECM)是细胞生存的重要内环境, 是肿瘤细胞侵袭和转移过程中必须克服的生理屏障. 基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)是降解ECM最重要的酶类, 可促进肿瘤侵袭和转移[34,35]. 有研究表明Cox-2上调了MMP-9在PC中的表达, PGE2可能参与了这一过程, NS398可使MMP-9表达下调[36], 另一研究表明罗非昔布可下调VEGF蛋白、MMP-2mRNA和蛋白的表达[37]. Okami等[38]用选择性Cox-2抑制剂JTE-522作用于Cox-2阳性表达的PC细胞, 结果显示与肿瘤细胞侵袭力相关的细胞运动性、黏附到ECM和金属蛋白酶液化明胶的能力均有不同程度降低, 使PC细胞的侵袭力下降75%-90%, 对Cox-2阴性表达的PC细胞无明显作用. Kirane等[39]用帕瑞昔布(一种新型Cox-2抑制剂)作用于PC后, 能逆转上皮细胞间质转变(epithelial to mesenchymal transition, EMT), 降低了癌细胞的侵袭和迁移能力. 因此, 选择性Cox-2抑制剂可能是一个对PC侵袭和转移的治疗及预防有效的药物.

3.4 *增强放、化疗的敏感性* 研究也表明Cox-2抑

制剂与其他抗癌药物及放射治疗联用可明显增强化疗或放疗的疗效, 增加抗癌药物的敏感性. Rosendahl等[40]研究表明塞来昔布能增强索拉非尼对体外培养的5个PC细胞株(BxPC-3、MIA-PaCa-2、PANC-1、AsPC-1)生长抑制和诱导凋亡的作用, 其机制与抑制p21(WAF1/Cip1)表达有关. 还有研究表明帕瑞昔布能降低吉西他滨和埃罗替尼对体外PC细胞作用的IC_{50}[39], 提示选择性Cox-2抑制剂联合化疗药物可能可以减少化疗药物的用量, 以减少化疗药物产生的副作用. 徐刚等[41]研究发现Cox-2选择性抑制剂塞来昔布可明显增强放射线对PC细胞生长的抑制作用, 可明显抑制作为细胞增殖指标的PCNA蛋白和Cyclin Dl蛋白表达, 细胞增殖明显受抑制, 塞来昔布对PC有明显的放疗增敏作用.

3.5 预防炎症致癌和调节肿瘤免疫 Cox-2的催化产物PGE2参与了炎症反应的整个过程, 而炎症又是肿瘤发生的危险因素[42,43]. 调节炎症肿瘤微环境的治疗可促进树突状细胞(dendritic cell, DC)和单核细胞分化为功能性DC, 可能会提高PDAC患者的生存时间[44]. 一项最新的研究表明, 诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)和Cox-2在人类和动物模型的胰腺炎和PC组织中的都升高, iNOS和Cox-2两种抑制剂可阻止BOP诱导的仓鼠PC的发展, 炎症因子参与了PC的发生、发展, 通过抗炎药调节炎性因子可防治PC[45]. 另外, PGE2可抑制白介素-2(interleukin-2, IL-2)受体和干扰素-γ(interferon-γ, IFN-γ)受体的表达, 上调IL-10水平, 下调IL-12水平, 破坏正常的免疫平衡, 使得肿瘤细胞逃避机体的免疫监视. 选择性Cox-2抑制剂可抑制PGE2的生成和恢复IL-10、IL-12之间的平衡, 起到免疫调节作用[46].

4 选择性Cox-2抑制剂治疗胰腺癌的临床研究

目前, 只有塞来昔布被应用于治疗PC的临床研究, 其他很多Cox-2抑制剂还未见报道. 国外学者将塞来昔布作为放、化疗的辅助治疗应用于PC的Ⅱ、Ⅲ期临床研究, 表明可以延长生存时间和改善生活质量, 但其临床疗效并不明显, 且出现了一些不良反应. Lipton等[47]用吉西他滨、伊立替康、塞来昔布联合治疗21例未经治疗且不能手术切除的PC患者, 结果显示80%的患者存活了1年, 20%的患者存活了2年, 中位生存期为18 mo, 患者的生存质量提高了且不良反应较轻. Ferrari等[48]采用塞来昔布联合吉西他滨治疗42例晚期PC患者, 结果表明临床受益率(clinical benefit response, CBR)为54.7%, 中位生存期为9.1 mo, 不良反应较低. 但Dragovich等[49]的研究却显示, 塞来昔布并不能增强吉西他滨的疗效, 1年生存率仅15%, 并且患者出现了中性粒细胞减少和贫血等不良反应. 塞来昔布、吉西他滨、顺铂三药联合的研究结果显示塞来昔布并不增加化疗疗效, 生存期也无明显改善, 中位生存期仅为5.8 mo[50]. Cascinu等[51]的研究也表明塞来昔布并不能增强吉西他滨联合奥沙利铂的化疗疗效, 多数患者血清CA199表达水平无明显变化, 而且使肿瘤组织中Cox-2和NF-κB表达反而增加. 另一项临床研究显示塞来昔布与放化疗联合治疗晚期PC, 能起到增效作用, 但却增加了细胞毒药物的毒性[52]. 作者认为, 以上研究多是对PC中晚期患者进行的临床研究, 假如能对早期患者大胆选用其他也包括塞来昔布在内的选择性Cox-2抑制剂来进行辅助治疗, 可能会取得更好的疗效.

5 结论

Cox-2在PC发生、发展中的具体机制以及选择性Cox-2抑制剂对PC的作用机制仍不明确, 还有待深入研究. 能否通过*Cox-2*基因和蛋白表达水平的检测来判断PC的恶性程度和预后, 如何提高选择性Cox-2抑制剂作为辅助治疗应用于临床的疗效, 对Cox-2阴性表达或低表达的PC患者如何治疗, 这些问题亟待我们进一步研究并解决. 尽管许多研究已证实Cox-2抑制剂在体外和动物体内可抑制PC细胞增殖、诱导细胞凋亡, 并增加对放、化疗的敏感性, 但我们仍需加强基础研究进一步明确其抗肿瘤的分子机制, 这将对PC的治疗具有重要的指导意义. 相信随着分子生物学技术的发展, 我们能开发出一种对PC作用更强, 特异性、敏感性更好, 作用靶点广泛, 且不良反应较小的新型Cox-2抑制剂. 总之, 选择性Cox-2抑制剂对PC的治疗有着广阔的应用前景.

6 参考文献

1 Hidalgo M. Pancreatic cancer. *N Engl J Med* 2010; 362: 1605-1617 [PMID: 20427809]
2 Chun-Ye Q, Xun S, Ming G. Correlation between spiral CT preoperative staging of pancreatic cancer and PTEN and COX-2 expression. *Hepatogastroenterology* 2012; 59: 2000-2002 [PMID: 22389271 DOI: 10.5754/hge12031]
3 Marek K, Kujawska A. Evolution of functional respiratory disorders in different types of pneumoconio-

■同行评价
本文论述条理清晰, 语言简练准确, 叙述全面, 行文流畅, 可读性好, 对从事PC基础和临床研究的人员, 特别是临床医生具有重要指导意义.

sis. *Bull Physiopathol Respir* (Nancy) 1975; 11: 597-610 [PMID: 2357 DOI: 10.3389/fphar.2013.00034]
4 Juuti A, Louhimo J, Nordling S, Ristimäki A, Haglund C. Cyclooxygenase-2 expression correlates with poor prognosis in pancreatic cancer. *J Clin Pathol* 2006; 59: 382-386 [PMID: 16467169]
5 Funahashi H, Satake M, Dawson D, Huynh NA, Reber HA, Hines OJ, Eibl G. Delayed progression of pancreatic intraepithelial neoplasia in a conditional Kras(G12D) mouse model by a selective cyclooxygenase-2 inhibitor. *Cancer Res* 2007; 67: 7068-7071 [PMID: 17652141]
6 李鹏, 刘江伟, 许永华, 朱淑萍, 郭飞, 董翔. 帕瑞昔布对人胰腺癌细胞株BxPC-3、AsPC-1增殖凋亡的影响及其机制. 世界华人消化杂志 2012; 20: 675-679
7 Warner TD, Mitchell JA. Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic. *FASEB J* 2004; 18: 790-804 [PMID: 15117884]
8 Telliez A, Furman C, Pommery N, Hénichart JP. Mechanisms leading to COX-2 expression and COX-2 induced tumorigenesis: topical therapeutic strategies targeting COX-2 expression and activity. *Anticancer Agents Med Chem* 2006; 6: 187-208 [PMID: 16712448]
9 De Keijzer S, Meddens MB, Torensma R, Cambi A. The Multiple Faces of Prostaglandin E2 G-Protein Coupled Receptor Signaling during the Dendritic Cell Life Cycle. *Int J Mol Sci* 2013; 14: 6542-6555 [PMID: 23528886 DOI: 10.3390/ijms14046542]
10 Norel X. Prostanoid receptors in the human vascular wall. *ScientificWorldJournal* 2007; 7: 1359-1374 [PMID: 17767355]
11 Talar-Wojnarowska R, Gasiorowska A, Olakowski M, Lampe P, Smolarz B, Romanowicz-Makowska H, Malecka-Panas E. Role of cyclooxygenase-2 gene polymorphisms in pancreatic carcinogenesis. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4113-4117 [PMID: 22039326 DOI: 10.3748/wjg.v17.i36.4113]
12 Xu DK, Zhang XM, Zhao P, Cai JC, Zhao D, Tan W, Guo YL, Lin DX. [Association between single nucleotide polymorphisms in the promoter of cyclooxygenase COX-2 gene and hereditary susceptibility to pancreatic cancer]. *Zhonghua Yixue Zazhi* 2008; 88: 1961-1965 [PMID: 19062735]
13 Zhao D, Xu D, Zhang X, Wang L, Tan W, Guo Y, Yu D, Li H, Zhao P, Lin D. Interaction of cyclooxygenase-2 variants and smoking in pancreatic cancer: a possible role of nucleophosmin. *Gastroenterology* 2009; 136: 1659-1668 [PMID: 19422084]
14 Almoguera C, Shibata D, Forrester K, Martin J, Arnheim N, Perucho M. Most human carcinomas of the exocrine pancreas contain mutant c-K-ras genes. *Cell* 1988; 53: 549-554 [PMID: 2453289]
15 Tucker ON, Dannenberg AJ, Yang EK, Zhang F, Teng L, Daly JM, Soslow RA, Masferrer JL, Woerner BM, Koki AT, Fahey TR. Cyclooxygenase-2 expression is up-regulated in human pancreatic cancer. *Cancer Res* 1999; 59: 987-990 [PMID: 10070951]
16 Molina MA, Sitja-Arnau M, Lemoine MG, Frazier ML, Sinicrope FA. Increased cyclooxygenase-2 expression in human pancreatic carcinomas and cell lines: growth inhibition by nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Cancer Res* 1999; 59: 4356-4362 [PMID: 10485483]
17 Kokawa A, Kondo H, Gotoda T, Ono H, Saito D, Nakadaira S, Kosuge T, Yoshida S. Increased expression of cyclooxygenase-2 in human pancreatic neoplasms and potential for chemoprevention by cyclooxygenase inhibitors. *Cancer* 2001; 91: 333-338 [PMID: 11180079]
18 刘江伟, 李开宗, 窦科峰. COX-2在胰腺癌组织中的表达及其与p53的相关性研究. 世界华人消化杂志 2003; 11: 229-232
19 Bergmann F, Moldenhauer G, Herpel E, Gaida MM, Strobel O, Werner J, Esposito I, Müerköster SS, Schirmacher P, Kern MA. Expression of L1CAM, COX-2, EGFR, c-KIT and Her2/neu in anaplastic pancreatic cancer: putative therapeutic targets? *Histopathology* 2010; 56: 440-448 [PMID: 20459551 DOI: 10.1111/j.1365-2559.2010.03499.x]
20 Crowell PL, Schmidt CM, Yip-Schneider MT, Savage JJ, Hertzler DA, Cummings WO. Cyclooxygenase-2 expression in hamster and human pancreatic neoplasia. *Neoplasia* 2006; 8: 437-445 [PMID: 16820089]
21 Hermanova M, Trna J, Nenutil R, Dite P, Kala Z. Expression of COX-2 is associated with accumulation of p53 in pancreatic cancer: analysis of COX-2 and p53 expression in premalignant and malignant ductal pancreatic lesions. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2008; 20: 732-739 [PMID: 18617777 DOI: 10.1097/MEG.0b013e3282f945fb]
22 Hill R, Li Y, Tran LM, Dry S, Calvopina JH, Garcia A, Kim C, Wang Y, Donahue TR, Herschman HR, Wu H. Cell intrinsic role of COX-2 in pancreatic cancer development. *Mol Cancer Ther* 2012; 11: 2127-2137 [PMID: 22784710 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-12-0342]
23 Matsubayashi H, Infante JR, Winter J, Klein AP, Schulick R, Hruban R, Visvanathan K, Goggins M. Tumor COX-2 expression and prognosis of patients with resectable pancreatic cancer. *Cancer Biol Ther* 2007; 6: 1569-1575 [PMID: 18000398]
24 Matsumoto G, Muta M, Tsuruta K, Horiguchi S, Karasawa K, Okamoto A. Tumor size significantly correlates with postoperative liver metastases and COX-2 expression in patients with resectable pancreatic cancer. *Pancreatology* 2007; 7: 167-173 [PMID: 17592230]
25 Hermanova M, Karasek P, Tomasek J, Lenz J, Jarkovsky J, Dite P. Comparative analysis of clinicopathological correlations of cyclooxygenase-2 expression in resectable pancreatic cancer. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 1879-1884 [PMID: 20397266]
26 Xu XF, Xie CG, Wang XP, Liu J, Yu YC, Hu HL, Guo CY. Selective inhibition of cyclooxygenase-2 suppresses the growth of pancreatic cancer cells in vitro and in vivo. *Tohoku J Exp Med* 2008; 215: 149-157 [PMID: 18577844]
27 Ambike V, Adsule S, Ahmed F, Wang Z, Afrasiabi Z, Sinn E, Sarkar F, Padhye S. Copper conjugates of nimesulide Schiff bases targeting VEGF, COX and Bcl-2 in pancreatic cancer cells. *J Inorg Biochem* 2007; 101: 1517-1524 [PMID: 17689613]
28 Huang DS, Xu X, Zheng SS, Cheng JF. [NS398 induced apoptosis in pancreatic carcinoma cell strain BxPC-3 through a COX-2-in dependent pathway]. *Zhongguo Yixue Kexueyuan Xuebao* 2005; 27: 601-605 [PMID: 16274041]
29 Chuang HC, Kardosh A, Gaffney KJ, Petasis NA, Schönthal AH. COX-2 inhibition is neither necessary nor sufficient for celecoxib to suppress tumor cell proliferation and focus formation in vitro. *Mol Cancer* 2008; 7: 38 [PMID: 18485224 DOI:

10.1186/1476-4598-7-38]
30 Eibl G, Bruemmer D, Okada Y, Duffy JP, Law RE, Reber HA, Hines OJ. PGE(2) is generated by specific COX-2 activity and increases VEGF production in COX-2-expressing human pancreatic cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 306: 887-897 [PMID: 12821125]
31 Raut CP, Nawrocki S, Lashinger LM, Davis DW, Khanbolooki S, Xiong H, Ellis LM, McConkey DJ. Celecoxib inhibits angiogenesis by inducing endothelial cell apoptosis in human pancreatic tumor xenografts. *Cancer Biol Ther* 2004; 3: 1217-1224 [PMID: 15477758]
32 Toomey DP, Manahan E, McKeown C, Rogers A, McMillan H, Geary M, Conlon KC, Murphy JF. Vascular endothelial growth factor and not cyclooxygenase 2 promotes endothelial cell viability in the pancreatic tumor microenvironment. *Pancreas* 2010; 39: 595-603 [PMID: 20118820]
33 Eibl G, Takata Y, Boros LG, Liu J, Okada Y, Reber HA, Hines OJ. Growth stimulation of COX-2-negative pancreatic cancer by a selective COX-2 inhibitor. *Cancer Res* 2005; 65: 982-990 [PMID: 15705899]
34 Johansson N, Ahonen M, Kähäri VM. Matrix metalloproteinases in tumor invasion. *Cell Mol Life Sci* 2000; 57: 5-15 [PMID: 10949577]
35 Cox G, O'Byrne KJ. Matrix metalloproteinases and cancer. *Anticancer Res* 2001; 21: 4207-4219 [PMID: 11908674]
36 Bu X, Zhao C, Dai X. Involvement of COX-2/PGE(2) Pathway in the Upregulation of MMP-9 Expression in Pancreatic Cancer. *Gastroenterol Res Pract* 2011; 2011: 214269 [PMID: 21760774 DOI: 10.1155/2011/214269]
37 Zhou XC, Tang CW, Liu CL, Wang CH. [Effects of rofecoxib on angiogenesis of pancreatic cancer xenograft in nude mice]. *Ai Zheng* 2004; 23: 376-380 [PMID: 15087022]
38 Okami J, Nakamori S, Hiraoka N, Tsujie M, Hayashi N, Yamamoto H, Fujiwara Y, Nagano H, Dono K, Umeshita K, Sakon M, Monden M. Suppression of pancreatic cancer cell invasion by a cyclooxygenase-2-specific inhibitor. *Clin Exp Metastasis* 2003; 20: 577-584 [PMID: 14669788]
39 Kirane A, Toombs JE, Ostapoff K, Carbon JG, Zaknoen S, Braunfeld J, Schwarz RE, Burrows FJ, Brekken RA. Apricoxib, a novel inhibitor of COX-2, markedly improves standard therapy response in molecularly defined models of pancreatic cancer. *Clin Cancer Res* 2012; 18: 5031-5042 [PMID: 22829202 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-0453]
40 Rosendahl AH, Gundewar C, Said K, Karnevi E, Andersson R. Celecoxib synergizes human pancreatic ductal adenocarcinoma cells to sorafenib-induced growth inhibition. *Pancreatology* 2012; 12: 219-226 [PMID: 22687377 DOI: 10.1016/j.pan.2012]
41 徐刚, 王兴鹏, 赵国旗, 吴恺, 赵崧. 塞来昔布对胰腺癌的放疗增敏作用及其机制研究. 中华消化杂志 2006; 26: 753-757
42 Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature* 2002; 420: 860-867 [PMID: 12490959]
43 Clevers H. At the crossroads of inflammation and cancer. *Cell* 2004; 118: 671-674 [PMID: 15369667]
44 Tjomsland V, Niklasson L, Sandström P, Borch K, Druid H, Bratthäll C, Messmer D, Larsson M, Spångeus A. The desmoplastic stroma plays an essential role in the accumulation and modulation of infiltrated immune cells in pancreatic adenocarcinoma. *Clin Dev Immunol* 2011; 2011: 212810 [PMID: 22190968 DOI: 10.1155/2011/212810]
45 Takahashi M, Mutoh M, Ishigamori R, Fujii G, Imai T. Involvement of inflammatory factors in pancreatic carcinogenesis and preventive effects of anti-inflammatory agents. *Semin Immunopathol* 2013; 35: 203-227 [PMID: 22955327 DOI: 10.1007/s00281-012-0340-x]
46 Stolina M, Sharma S, Lin Y, Dohadwala M, Gardner B, Luo J, Zhu L, Kronenberg M, Miller PW, Portanova J, Lee JC, Dubinett SM. Specific inhibition of cyclooxygenase 2 restores antitumor reactivity by altering the balance of IL-10 and IL-12 synthesis. *J Immunol* 2000; 164: 361-370 [PMID: 10605031]
47 Lipton A, Campbell-Baird C, Witters L, Harvey H, Ali S. Phase II trial of gemcitabine, irinotecan, and celecoxib in patients with advanced pancreatic cancer. *J Clin Gastroenterol* 2010; 44: 286-288 [PMID: 20216081]
48 Ferrari V, Valcamonico F, Amoroso V, Simoncini E, Vassalli L, Marpicati P, Rangoni G, Grisanti S, Tiberio GA, Nodari F, Strina C, Marini G. Gemcitabine plus celecoxib (GECO) in advanced pancreatic cancer: a phase II trial. *Cancer Chemother Pharmacol* 2006; 57: 185-190 [PMID: 16151811]
49 Dragovich T, Burris H, Loehrer P, Von Hoff DD, Chow S, Stratton S, Green S, Obregon Y, Alvarez I, Gordon M. Gemcitabine plus celecoxib in patients with advanced or metastatic pancreatic adenocarcinoma: results of a phase II trial. *Am J Clin Oncol* 2008; 31: 157-162 [PMID: 18391600 DOI: 10.1097/COC.0b013e31]
50 El-Rayes BF, Zalupski MM, Shields AF, Ferris AM, Vaishampayan U, Heilbrun LK, Venkatramanamoorthy R, Adsay V, Philip PA. A phase II study of celecoxib, gemcitabine, and cisplatin in advanced pancreatic cancer. *Invest New Drugs* 2005; 23: 583-590 [PMID: 16034525]
51 Cascinu S, Scartozzi M, Carbonari G, Pierantoni C, Verdecchia L, Mariani C, Squadroni M, Antognoli S, Silva RR, Giampieri R, Berardi R. COX-2 and NF-KB overexpression is common in pancreatic cancer but does not predict for COX-2 inhibitors activity in combination with gemcitabine and oxaliplatin. *Am J Clin Oncol* 2007; 30: 526-530 [PMID: 17921715]
52 Morak MJ, Richel DJ, van Eijck CH, Nuyttens JJ, van der Gaast A, Vervenne WL, Padmos EE, Schaake EE, Busch OR, van Tienhoven G. Phase II trial of Uracil/Tegafur plus leucovorin and celecoxib combined with radiotherapy in locally advanced pancreatic cancer. *Radiother Oncol* 2011; 98: 261-264 [PMID: 21075468 DOI: 10.1016/j.radonc.2010.10.016]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2013年5月28日; 21(15): 1400-1404
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

蜂毒素调节人胃癌细胞线粒体相关蛋白表达

陶文华, 孔桂美, 卜 平, 王继军, 胡茂志, 张 强

■背景资料
胃癌居消化系肿瘤之首, 对于失去手术机会及晚期胃癌患者, 化疗仍是最有效的手段之一. 蜂毒素(melittin)是迄今为止人类所知的抗炎活性最强的物质之一, 最近研究表明, melittin还具有抑制肿瘤生长的作用, 进一步拓宽了melittin的应用范围.

陶文华, 孔桂美, 卜平, 王继军, 张强, 扬州大学医学院 江苏省扬州市 225001
胡茂志, 扬州大学检测中心 江苏省扬州市 225001
陶文华, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究.
国家自然科学基金资助项目, Nos. 81272537, 30801497
江苏省高校自然科学基金资助项目, No. 11KJB360010
作者贡献分布: 陶文华与孔桂美对此文所作贡献均等; 此课题由陶文华与孔桂美共同设计; 研究过程由陶文华、王继军及胡茂志操作完成; 研究所用试剂由孔桂美与卜平提供; 数据分析由陶文华与张强完成; 本论文写作由陶文华与孔桂美完成.
通讯作者: 孔桂美, 讲师, 225001, 江苏省扬州市淮海路11号, 扬州大学医学院. gmkong@yzu.edu.cn
收稿日期: 2013-03-18 修回日期: 2013-04-23
接受日期: 2013-04-27 在线出版日期: 2013-05-28

Melittin regulates mitochondrial protein expression in human gastric cancer cells

Wen-Hua Tao, Gui-Mei Kong, Ping Bo, Ji-Jun Wang, Mao-Zhi Hu, Qiang Zhang

Wen-Hua Tao, Gui-Mei Kong, Ping Bo, Ji-Jun Wang, Qiang Zhang, Medical School of Yangzhou University, Yangzhou 225001, Jiangsu Province, China
Mao-Zhi Hu, Testing Center of Yangzhou University, Yangzhou 225001, Jiangsu Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 30801497 and 30801497; the Higher School Natural Science Foundation of Jiangsu Province, No. 11KJB 360010
Correspondence to: Gui-Mei Kong, Lecturer, Medical School of Yangzhou University, 11 Huaihai Road, Yangzhou 225001, Jiangsu Province, China. gmkong@yzu.edu.cn
Received: 2013-03-18 Revised: 2013-04-23
Accepted: 2013-04-27 Published online: 2013-05-28

Abstract

AIM: To observe the effect of melittin on apoptosis and expression of mitochondrial proteins in human gastric cancer cells (SGC-7901) *in vitro*.

METHODS: SGC-7901 cells were treated with 4 μg/mL of melittin for different durations (0, 1, 2, or 4 h). After treatment, cell morphological changes were observed under an inverted microscope. The levels of reactive oxygen species (ROS) and mitochondrial transmembrane potential (MTP) were detected by fluorescence microscopy. The expression of apoptosis inducing factor (AIF), Smac/Diablo, cytochrome C, and EndoG was examined by immunohistochemistry.

RESULTS: Melittin induced the apoptosis of SGC-7901 cells. ROS experiments showed that compared to the control group, more strong cytoplasmic green fluorescence was observed in the melittin group. MPT experiments showed that the majority of cells in the melittin group exhibited green fluorescence ($P < 0.05$), while the control group showed red fluorescence. The positive rates of mitochondrial proteins AIF, cytochrome C, EndoG, and Smac/Diablo protein expression were 15.99% ± 1.66%, 44.48% ± 4.85%, 62.34% ± 2.71%, and 28.58% ± 2.09%, significantly different from those in the control group (all $P < 0.05$).

CONCLUSION: Melittin induces SGC-7901 cell apoptosis possibly by regulating the expression of mitochondrial apoptosis related proteins.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Melittin; SGC-7901 cells; Reactive oxygen species; Mitochondrial transmembrane potential; Apoptosis inducing factor; Cytochrome C; EndoG; Smac/Diablo

Tao WH, Kong GM, Bo P, Wang JJ, Hu MZ, Zhang Q. Melittin regulates mitochondrial protein expression in human gastric cancer cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(15): 1400-1404 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1400.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i15.1400

摘要

目的: 观察蜂毒素(melittin)诱导人胃腺癌细胞凋亡及其对线粒体相关蛋白表达的影响.

方法: 4 μg/mL melittin诱导SGC-7901细胞不同时间(0、1、2、4 h), 观察细胞的形态学改变; 免疫荧光法观察活性氧(reactive oxygen species, ROS)、线粒体膜电位(Jc-1)表达; IHC观察胃癌细胞线粒体释放蛋白细胞凋亡诱导因子(apoptosis inducing factor, AIF)、Smac/Diablo、细胞色素C(cytochrome C)、EndoG的表达情况.

结果: melittin能明显诱导SGC-7901细胞凋

■同行评议者
陆伦根, 教授, 上海交通大学附属第一人民医院消化科

亡; ROS实验显示, melittin组与对照组比较, 细胞胞浆出现很强的绿色荧光; MPT实验显示, melittin组显示绿色荧光的细胞数占多数(P<0.05), 而阴性对照组, 均表现为红色荧光细胞, 线粒体相关蛋白检测结果显示, melittin组AIF、cytochrome C、EndoG、Smac/Diablo表达率分别为15.99%±1.66%、42.73%±3.48%、62.34%±2.71%、28.58%±2.09%(P<0.05).

结论: melittin可诱导SGC-7901细胞凋亡, 线粒体凋亡相关蛋白可能参与并发挥了重要作用.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 蜂毒素; 人胃腺癌SGC-7901细胞; 活性氧; 线粒体跨膜电位; 凋亡诱导因子; 细胞色素C; 核酸内切酶; Smac/Diablo

核心提示: 本实验进一步观察蜂毒素(melittin)抗胃癌的生物活性及细胞凋亡机制, 以期为melittin作为抗胃癌药物进一步研究和应用提供理论基础, 为melittin抗肿瘤的临床应用, 提供实验依据.

陶文华, 孔桂美, 卜平, 王继军, 张强, 胡茂志. 蜂毒素调节人胃癌细胞线粒体相关蛋白表达. 世界华人消化杂志 2013; 21(15): 1400-1404 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1400.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i15.1400

0 引言

胃癌居消化系肿瘤之首[1], 占全世界死亡率第2位[2], 在我国也是最常见的恶性肿瘤之一, 对于失去手术机会的及晚期胃癌患者, 化疗仍是最有效的手段之一. 蜂毒素(melittin)约占蜂毒干质量的50%, 是蜂毒的主要组成及活性成分, 可以抑制肿瘤细胞增殖, 诱导细胞凋亡[3]. 然而, melittin诱导人胃癌细胞凋亡的相关分子机制仍不明确. 本实验为进一步观察melittin抗胃癌的生物活性及细胞凋亡机制, 为melittin抗肿瘤的临床应用, 提供实验依据, 结果报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 人胃腺癌细胞株(SGC-7901)购自中科院细胞库; melittin、trypsin购自sigma公司; 新生小牛血清购自上海洛神生物有限公司; 细胞凋亡线粒体膜电位检测试剂盒(JC-1)购自南京凯基生物科技发展有限公司; 活性氧活性检测试剂盒、cytochrome C抗体、AIF抗体购自碧云天生物科技公司; EndoG抗体购自北京博奥森生物技术有限公司; Smac/Diablo购自cell signaling technology; DAB显色试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: SGC-7901细胞在RPMI 1640(含0.1 U/L青霉素、0.1 U/L链霉素, 100 mL/L灭活新生牛血清)完全培养基中于37 ℃, 50 mL/L CO_2饱和湿度培养箱常规培养, 2-3 d换液1次, 取对数生长期细胞进行试验.

1.2.2 倒置显微镜观察人胃腺癌SGC-7901细胞形态学改变: 4 μg/mL melittin作用于SGC-7901细胞0、1、2和4 h后, 在倒置显微镜下观察细胞形态改变.

1.2.3 活性氧检测试剂盒检测人胃腺癌SGC-7901细胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平: 将细胞以1×10^6个/孔密度种植于6孔板, 设3个复孔, 4 μg/mL melittin作用于对数生长期细胞(0、1、2、4 h), 阳性对照组Rosup作用30 min(活性氧检测试剂盒提供), PBS洗涤, 加入含5 μmol/L DCFH-DA培养基, 充分混匀后, 37 ℃孵育1 h, 用无血清培养液洗涤3次, 荧光显微镜下观察细胞内ROS荧光强度.

1.2.4 JC-1染色法检测人胃腺癌SGC-7901细胞ΔΨm: 将细胞以1×10^6个/孔密度种植于6孔板, 同时设3个复孔, 4 μg/mL melittin作用于对数生长期细胞(0、1、2、4 h)后, PBS洗涤, JC-1工作液(10 μg/mL)重悬细胞, 37 ℃孵育20 min, 37 ℃ JC-1缓冲液洗涤2次, 重悬细胞, 荧光显微镜下观察细胞荧光颜色变化.

1.2.5 线粒体cytochrome C、EndoG、AIF和Smac/Diablo蛋白的表达: 将盖玻片置于细胞密度为1×10^6个/孔的6孔板中爬片, 4 μg/mL melittin作用于对数生长期细胞(0、4 h)后, 按照文献方法[4]进行免疫组织化学法, DAB显色, 苏木精复染, 中性树胶封片, 随机取5个视野, 细胞胞浆中出现棕黄色颗粒为阳性表达, 显微镜下计算阳性表达细胞数.

统计学处理 采用SPSS17.0软件进行χ^2检验分析, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 诱导人胃腺癌SGC7901细胞出现典型形态结构改变 4 μg/mL melittin体外(0、1 h)诱导人胃癌细胞时细胞形态正常(图1A), 2 h开始出现体积缩小, 细胞变圆, 4 h细胞与周围的细胞脱离, 细胞质密度增加, 贴壁细胞数减少(图1B).

2.2 蜂毒素对人胃腺癌SGC-7901细胞活性氧

■研发前沿
胃癌的治疗目前仍然是医学一大难题, 现有的抗肿瘤药物存在着不良反应大等特点, 需要有作用更显著、不良反应更小的产品替代. melittin作为一种生物单体, 具有细胞毒作用, 能够抑制胃癌、肝癌等肿瘤细胞的生长. 有研究表明melittin可通过线粒体途径诱导肝癌细胞凋亡, melittin是否也通过线粒体诱导胃癌细胞的凋亡是目前亟待研究的问题.

■相关报道
孔桂美等研究报道基因工程melittin能诱导U937细胞凋亡. 李爱剑等报道melittin能抑制人胃癌细胞BGC823的生长. 王怡苹等报道蜂毒素通过调控*Bcl-2*、*Bax*、*p53*基因表达诱导胃癌细胞SGC-7901凋亡. Zhang等报道蜂毒素可能通过影响线粒体膜蛋白7A6表达诱导肝癌细胞凋亡.

■创新盘点
melittin作为一种小分子抗肿瘤蛋白, 其诱导肿瘤凋亡机制是目前研究热点, 本研究通过选用线粒体通路相关蛋白的变化研究蜂毒素诱导胃癌细胞凋亡的相关机制.

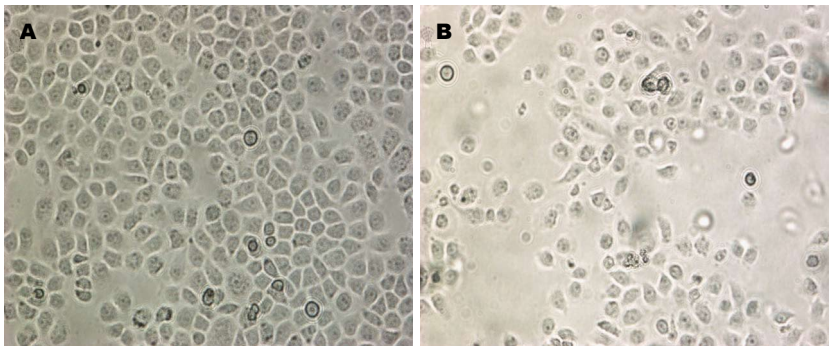


图 1 蜂毒素作用于胃癌细胞形态的改变(×400). A: control; B: 4 μg/mL蜂毒素作用SGC-7901 4 h.

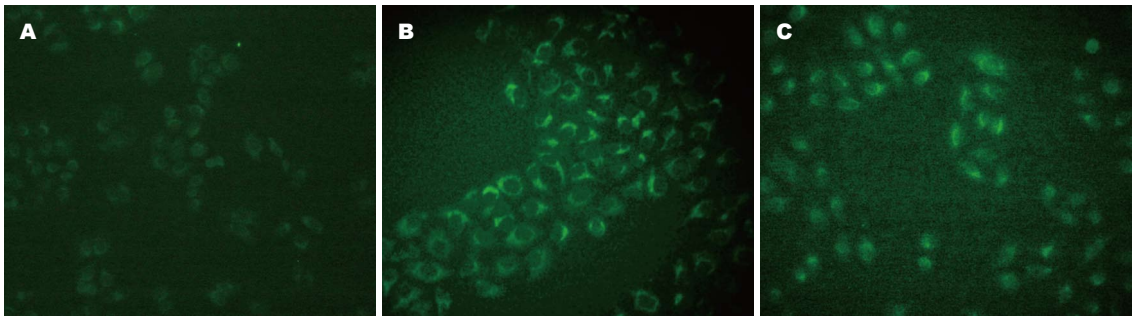


图 2 蜂毒素诱导胃癌细胞ROS的变化(×400). A: control; B: Rosup阳性对照组.

产生的影响 检测结果可以看出, 未经4 μg/mL melittin处理组细胞胞浆荧光较弱(图2A), 随着诱导时间的延长, 荧光显微镜下可以观察细胞胞浆的绿色荧光明显增强, melittin处理4 h与阳性对照组荧光强度一致(图2B, C).

2.3 蜂毒素对人胃腺癌SGC-7901细胞Δψm的影响 通过荧光显微镜下观察发现, 阴性对照组细胞呈红色荧光(图3A), 随着melittin诱导时间的延长, 细胞胞浆中出现的绿色荧光越来越多(P = 0.04), 4 μg/mL melittin诱导细胞4 h胞浆中绿色荧光表现见图3B.

2.4 线粒体中cytochrome C、EndoG、AIF和Smac/Diablo蛋白的表达情况 4 μg/mL诱导肿瘤细胞后, 细胞胞浆中出现棕黄色反应, 表明4 μg/mL melittin诱导细胞后AIF、cytochrome C、EndoG、Smac/Diablo均有所表达(图4), 阳性表达率分别为15.99%±1.66%、42.73%±3.48%、62.34%±2.71%、28.58%±2.09%, 与阴性对照组比较差异显著(P<0.05).

3 讨论

蜂毒治病作为一种民间疗法由来已久, 对于自身免疫性疾病有较好的疗效. 蜂毒首见于《吉林中草药》: “祛风湿, 治风湿性关节炎.” 蜂毒性味辛、苦、平; 功效祛风湿、止疼痛、化血瘀. melittin生物学活性很高, 结构明确, 是由26个氨基酸组成的碱性多肽, 是蜂毒中起生物学活性的主要组分. Moon等[5]、Jo等[6]和Kim等[7]相继报道melittin可以通过细胞内不同信号通路发挥抑制肿瘤增殖的作用; Ji等[8]报道胡桃酮可通过线粒体通路诱导人胃腺癌细胞(SGC-7901) 凋亡.

本实验研究结果发现4 μg/mL melittin能明显诱导人SGC-7901细胞凋亡. 活性氧的检测结果显示, 4 μg/mL作用0 h后细胞胞浆中出现微弱的绿色荧光, 随着药物作用时间延长, 细胞胞浆中绿色荧光强度越强, 4 h组的荧光强度与阳性对照组一致; 线粒体膜电位检测结果显示, 阴性对照组细胞胞浆中可见到红色荧光, 而随着4 μg/mL melittin诱导细胞时间的延长, 胞浆中出现绿色荧光的细胞数越多, 这些结果说明4 μg/mL melittin感染细胞后活性氧产生增多, 线粒体膜电位下降, 同时活性氧堆积导致线粒体内膜氧化损伤, 造成内膜脂质的过氧化反应, 影响跨越线粒体膜的质子梯度, 同时, 线粒体的功能障碍又可导致氧自由基产生增多, 又可引起生物膜结构蛋白质和脂质过氧化, 使得线粒体膜通透性转运孔(mitochondrialpermeability-transitionpore, MPTP)不可逆开放[9-11], 当MPTP持续性开放时, 大分子物质可非选择性进入孔道, 此时, 线粒体肿胀、外膜破裂, 从而导致线粒体膜电位下降, 细胞不可逆走向凋亡. 这与

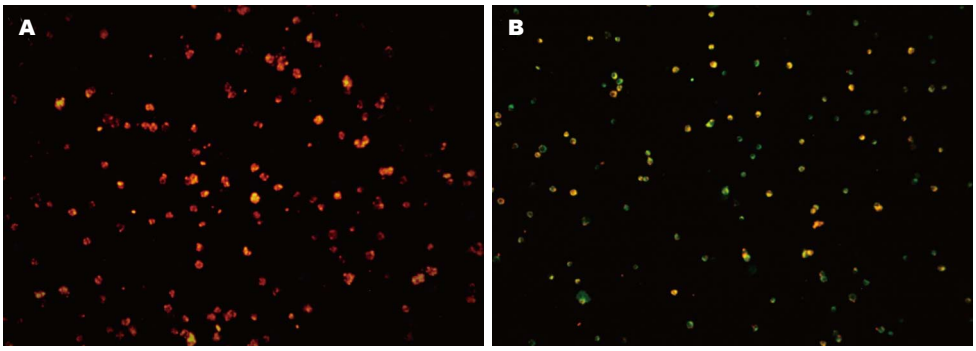


图 3 蜂毒素诱导胃癌细胞MPT的变化(×200). A: Jc-1处理组; B: Jc-1处理+4 μg/mL蜂毒素作用SGC-7901 4 h.

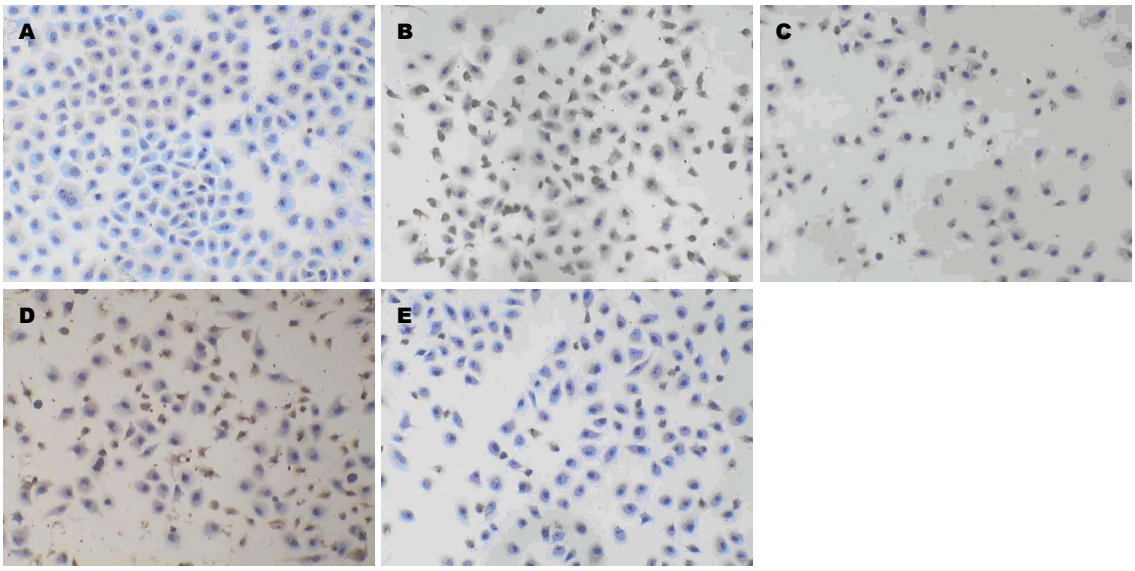


图 4 蜂毒素诱导后细胞中蛋白表达情况(×200). A: 阴性组; B: EndoG组; C: Smac/Diablo组; D: cytochrome C组; E: AIF组.

Tu等[12]报道的melittin通过激活人黑色素瘤细胞活性氧、降低膜电位, 影响钙离子内流, 激活Caspase-2、-3诱导细胞凋亡结果几乎一致. 同时4 μg/mL melittin作用SGC-7901细胞, melittin处理组线粒体相关蛋白(Smac/Diablo、cytochrome C、AIF、EndoG)阳性表达率分别为44.48%±4.85%、15.99%±1.66%、28.58%±2.09%、62.34%±2.71%, 与未经melittin处理组比较有统计学意义. Smac/Diablo是Stucki等[13]发现的一种基因定位于12q24的促凋亡因子, 成熟Smac蛋白以纯二聚体的形式存在于线粒体膜间腔, 其促凋亡功能的发挥有赖于其从线粒体释放到胞质, 肿瘤细胞胞质内Livin的高表达能减少Smac的释放, cytochrome C释放到胞质中, 形成Apaf-1和procaspase-9凋亡体, 两者进一步与Caspase-3结合而发挥抑凋亡作用, 本实验中发现melittin处理后Smac及cytochrome C蛋白从线粒体中释放, 与Stucki等[13]报道一致. AIF是由Lorenzo等[14]近年来发现的一种凋亡效应分子, 在凋亡信号的刺激下, 对非活性的AIF进行特异性切割, 完成切割后的AIF通过线粒体孔释放入胞浆, 本实验中AIF释放到胞浆, 促进胃癌细胞凋亡. EndoG是一种由核基因编码的存在于真核细胞线粒体膜间区的核酸酶, 主要与线粒体DNA复制有关[15], 在4 μg/mL melittin作用下, 位于线粒体膜间隙的EndoG转位至胞浆, 进而进入胞核, 引起染色体DNA的断裂.

从本研究我们可以推断出melittin可能通过激活活性氧, 降低膜电位, 释放线粒体相关蛋白等机制诱导人胃腺癌SGC-7901细胞凋亡.

志谢: 感谢廖月霞、吴克艳在本实验过程中给予的大力帮助.

4 参考文献

1 Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ.

■名词解释

线粒体通路: 线粒体产生活性氧、超氧化物等物质使得线粒体膜电位下降, 线粒体通透性转换孔形成, 线粒体蛋白跨膜转运, 调控信息传导通路.

■同行评价
本文观察melittin诱导人胃腺癌细胞凋亡及其对线粒体相关蛋白表达的影响, 具有一定指导意义.

Cancer statistics, 2009. *CA Cancer J Clin* 2009; 59: 225-249 [PMID: 19474385 DOI: 10.3322/caac.20006]

2 Corso S, Ghiso E, Cepero V, Sierra JR, Migliore C, Bertotti A, Trusolino L, Comoglio PM, Giordano S. Activation of HER family members in gastric carcinoma cells mediates resistance to MET inhibition. *Mol Cancer* 2010; 9: 121 [PMID: 20500904 DOI: 10.1186/1476-4598-9-121]

3 Russell PJ, Hewish D, Carter T, Sterling-Levis K, Ow K, Hattarki M, Doughty L, Guthrie R, Shapira D, Molloy PL, Werkmeister JA, Kortt AA. Cytotoxic properties of immunoconjugates containing melittin-like peptide 101 against prostate cancer: in vitro and in vivo studies. *Cancer Immunol Immunother* 2004; 53: 411-421 [PMID: 14722668]

4 刘影, 唐军民, 唐岩, 常昕莹, 李枫. 人早期胚中CD20阳性细胞的免疫组织化学定位. 解剖学报 2007; 38: 238-240

5 Moon DO, Park SY, Choi YH, Kim ND, Lee C, Kim GY. Melittin induces Bcl-2 and caspase-3-dependent apoptosis through downregulation of Akt phosphorylation in human leukemic U937 cells. *Toxicon* 2008; 51: 112-120 [PMID: 17936321]

6 Jo M, Park MH, Kollipara PS, An BJ, Song HS, Han SB, Kim JH, Song MJ, Hong JT. Anti-cancer effect of bee venom toxin and melittin in ovarian cancer cells through induction of death receptors and inhibition of JAK2/STAT3 pathway. *Toxicol Appl Pharmacol* 2012; 258: 72-81 [PMID: 22027265]

7 Kim SK, Park KY, Yoon WC, Park SH, Park KK, Yoo DH, Choe JY. Melittin enhances apoptosis through suppression of IL-6/sIL-6R complex-induced NF-κB and STAT3 activation and Bcl-2 expression for human fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine* 2011; 78: 471-477 [PMID: 21354845 DOI: 10.1016/j.jbspin.2011.01.004]

8 Ji YB, Qu ZY, Zou X. Juglone-induced apoptosis in human gastric cancer SGC-7901 cells via the mitochondrial pathway. *Exp Toxicol Pathol* 2011; 63: 69-78 [PMID: 19815401 DOI: 10.1016/j.etp.2009.09.010]

9 Hail N. Mitochondria: A novel target for the chemoprevention of cancer. *Apoptosis* 2005; 10: 687-705 [PMID: 16133861]

10 Lee MG, Lee KT, Chi SG, Park JH. Costunolide induces apoptosis by ROS-mediated mitochondrial permeability transition and cytochrome C release. *Biol Pharm Bull* 2001; 24: 303-306 [PMID: 11256490]

11 Porter AG, Jänicke RU. Emerging roles of caspase-3 in apoptosis. *Cell Death Differ* 1999; 6: 99-104 [PMID: 10200555]

12 Tu WC, Wu CC, Hsieh HL, Chen CY, Hsu SL. Honeybee venom induces calcium-dependent but caspase-independent apoptotic cell death in human melanoma A2058 cells. *Toxicon* 2008; 52: 318-329 [PMID: 18602939]

13 Stucki JW, Simon HU. Mathematical modeling of the regulation of caspase-3 activation and degradation. *J Theor Biol* 2005; 234: 123-131 [PMID: 15721041]

14 Lorenzo HK, Susin SA. Therapeutic potential of AIF-mediated caspase-independent programmed cell death. *Drug Resist Updat* 2007; 10: 235-255 [PMID: 18180198 DOI: 10.1016/j.drup.2007.11.001]

15 Lorenzo HK, Susin SA. Mitochondrial effectors in caspase-independent cell death. *FEBS Lett* 2004; 557: 14-20 [PMID: 14741334]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

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

• 消息 •

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

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2013年5月28日; 21(15): 1405-1411
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

隔药饼灸对功能性胃肠病(肝郁脾虚证)大鼠海马和杏仁核AMPA受体亚基表达的影响

章海凤, 刘未艾, 常小荣, 刘 密, 张国山, 石 佳

章海凤, 湖南中医药大学 湖南省长沙市 410007
刘未艾, 湖南中医药大学第二附属医院针灸-脑病科 湖南省长沙市 410005
常小荣, 刘密, 张国山, 石佳, 湖南中医药大学针灸推拿学院 湖南省长沙市 410007
章海凤, 在读博士, 主要从事灸法治病机制的研究.
国家重点基础研究发展计划(973计划)基金资助项目, No. 2009CB522904
国家自然科学基金课题基金资助项目, Nos. 81173326, 81202770
教育部博士点基金资助项目, Nos. 20124323110001, 20124323120002
湖南省高校创新平台开放基金资助项目, No. 12K087
湖南省研究生创新基金资助项目, No, CX2012B339
湖南省高校科技创新团队支持计划基金资助项目
湖南省针灸推拿学重点学科基金资助项目
作者贡献分布: 此课题由常小荣与刘密设计; 动物实验与指标检测分析由章海凤、刘未艾、张国山及石佳完成; 论文写作由章海凤与常小荣完成.
通讯作者: 常小荣, 教授, 博士生导师, 410007, 湖南省长沙市韶山中路113号, 湖南中医药大学针灸推拿学院.
xrchang1956@163.com
电话: 0731-88458187
收稿日期: 2013-03-12 修回日期: 2013-04-15
接受日期: 2013-04-18 在线出版日期: 2013-05-28

Influence of cake-separated moxibustion on expression of AMPA receptor subunits in the amygdala and hippocampus in a rat model of functional gastrointestinal disorder (liver-stagnation and spleen-deficiency syndrome)

Hai-Feng Zhang, Wei-Ai Liu, Xiao-Rong Chang, Mi Liu, Guo-Shan Zhang, Jia Shi

Hai-Feng Zhang, Hunan University of TCM, Changsha 410007, Hunan Province, China
Wei-Ai Liu, the Second Affiliated Hospital of Hunan University of TCM, Changsha 410005, Hunan Province, China
Xiao-Rong Chang, Mi Liu, Guo-Shan Zhang, Jia Shi, College of Acupuncture and Massage, Hunan University of TCM, Changsha 410007, Hunan Province, China
Supported by: the National Key Basic Research Development Project ("973" Project), No. 2009 CB 522904; the National Natural Science Foundation of China, Nos. 81173326 and 81202770; the Doctoral Program Foundation of Ministry of Education of China, Nos. 20124323110001 and 20124323120002; the Hunan Province University Innovation Platform Open Fund, No, 12K087; the Hunan Province Graduate Innovation Fund, No, CX2012B339; the Hunan University Science and Technology Innovation Team Foundation; the Key Discipline Fund of Acupuncture and Massage of Hunan Province
Correspondence to: Xiao-Rong Chang, Professor, College of Acupuncture and Massage, Hunan University of TCM, 113 Shaoshan Middle Road, Changsha 410007, Hunan Province, China. xrchang1956@163.com
Received: 2013-03-12 Revised: 2013-04-15
Accepted: 2013-04-18 Published online: 2013-05-28

Abstract

AIM: To investigate the influence of cake-separated moxibustion on central α-amino-hydroxymethyl oxazole propionic acid (AMPA) receptor expression in rats with functional gastrointestinal disorder (FGID) (liver-depression and spleen-deficiency syndrome).

METHODS: Seventy-two SD rats were randomly divided into six groups: a blank group, a model group, a cake-separated moxibustion group, a 6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione (CNQX) group, a cake-separated moxibustion plus CNQX group, and a sham-operation group. Except for the blank group, the other five groups underwent chronic restraint stress + over-fatigue + diet disloyal modeling. Thirty minutes before modeling, cake-separated moxibustion for 5 Zhuang was applied for the cake-separated moxibustion group and cake-separated moxibustion + CNQX group. After modeling, microinjection of AMPA receptor antagonist in the amygdala (double) was performed in the CNQX group and sham-operation group using the stereotactic positioning system to assess the effect of surgical trauma on model rats. Western blot was used to detect the expression of AMPA receptor subunits GluR1 and GluR2 in the hippocampal CA1 region and amygdala.

RESULTS: Compared to the model group, GluR1 and GluR2 expression in the hippocampal CA1 region and amygdala BLA region was

■背景资料
功能性胃肠病(functional gastrointestinal disorders, FGIDs)是消化内科常见的疾病, 西医治疗主要是对症治疗, 虽有一定疗效, 但长期使用不良反应较多. 中医针灸是中华医学的瑰宝, 他将人体视为一个整体, 从多环节、多层次、多靶点进行综合调节, 达到治疗疾病的目的, 在防治疾病上具有更强的优势.

■同行评议者
唐文富, 副教授, 四川大学华西医院中西医结合科

■研发前沿
现代研究已经公认精神心理因素在胃肠疾病发病机制中起着十分重要的作用，精神心理因素的调节与大脑边缘系统关系十分密切，而海马和杏仁核是边缘系统的主要组成部分，共同参与个体情绪、自主活动及内分泌调节过程，α-氨基羟甲基恶唑丙酸(amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid, AMPA)受体分布于突触后膜，是十分重要的调节杏仁核和海马输入信号的突触后处理场所，在中枢神经系统介导下调整兴奋性神经传递，对突触可塑性尤其是长时程增强起着重要的作用.

significantly lower in the cake-separated moxibustion group, cake-separated moxibustion + CNQX group and CNQX group (GluR1 in the CA1 region: 1.05 ± 0.13 *vs* 0.59 ± 0.14, 0.33 ± 0.08, 0.49 ± 0.14, all $P < 0.05$; GluR1 in the BLA region: 0.95 ± 0.22 *vs* 0.46 ± 0.09, 0.31 ± 0.18, 0.47 ± 0.13, all $P < 0.05$; GluR2 in the CA1 region: 0.33 ± 0.08 *vs* 0.76 ± 0.13, 1.13 ± 0.15, 0.60 ± 0.08, all $P < 0.05$; GlUR2 in the BLA region: 0.29 ± 0.04 *vs* 0.46 ± 0.08, 0.85 ± 0.13, 0.48 ± 0.09, all $P < 0.05$). The Cake-separated moxibustion + CNQX group had the lowest expression of GluR1 and highest expression of GluR2. GluR2 expression in the hippocampal CA1 region and amygdala BLA region differed significantly between the CNQX group and cake-separated moxibustion group (0.60 ± 0.08 *vs* 1.13 ± 0.15, 0.48 ± 0.09 *vs* 0.85 ± 0.13, both $P < 0.05$).

CONCLUSION: Cake-separated moxibustion can regulate amygdala and hippocampal AMPA receptor subunit gene expression in rats with FGID.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Cake-separated moxibustion; Functional gastrointestinal disorder (FGID); Liver -depression and spleen-deficiency syndrome; AMPA receptor; Rat

Zhang HF, Liu WA, Chang XR, Liu M, Zhang GS, Shi J. Influence of cake-separated moxibustion on expression of AMPA receptor subunits in the amygdala and hippocampus in a rat model of functional gastrointestinal disorder (liver-stagnation and spleen-deficiency syndrome). Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(15): 1405-1411 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1405.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i15.1405

摘要

目的：探讨隔药饼灸治疗功能性胃肠病(functional gastrointestinal disorders, FGIDs)(肝郁脾虚证)中枢α-氨基羟甲基恶唑丙酸(amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid, AMPA)受体基因的调节机制.

方法：72只SD大鼠随机等分为6组，即空白组、模型组、隔药饼灸组、6-氰基-7-硝基喹喔啉-2,3-二酮(6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione, CNQX)组、隔药饼灸+CNQX组、假手术组. 除空白组外，其余5组均采用慢性束缚应激+过度疲劳+饮食失节方法造模，隔药饼灸组与隔药饼灸+CNQX组在造模前30 min隔药饼灸5壮. 造模结束后，运用脑立体定位仪于杏仁核(双)上微量注射α-氨基羟甲基恶唑丙酸(amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid, AMPA)受体拮抗剂造CNQX组，加造假手术组为了评估手术创伤对模型的影响程度. 采用Western blot方法检测海马CA1区和杏仁核AMPA受体亚型GluR1、GluR2的表达变化，比较各组在各区指标变化.

结果：在海马CA1区和杏仁核BLA区，与模型组相比，隔药饼灸组、隔药饼灸+CNQX组和CNQX组GluR1、GluR2表达差异均有统计学意义(GluR1表达分别为1.05±0.13 *vs* 0.59±0.14, 1.05±0.13 *vs* 0.33±0.08, 1.05±0.13 *vs* 0.49±0.14, 0.95±0.22 *vs* 0.46±0.09, 0.95±0.22 *vs* 0.31±0.18, 0.95±0.22 *vs* 0.47±0.13, 均$P<0.05$; GluR2表达分别为0.33±0.08 *vs* 0.76±0.13, 0.33±0.08 *vs* 1.13±0.15, 0.33±0.08 *vs* 0.60±0.08, 0.29±0.04 *vs* 0.46±0.08, 0.29±0.04 *vs* 0.85±0.13, 0.29±0.04 *vs* 0.48±0.09, 均$P<0.05$)；隔药饼灸+CNQX组GluR1表达最低，但GluR2表达最高，与CNQX组相比，隔药饼灸+CNQX组GluR2表达在海马CA1区和杏仁核区差异均有统计学意义(0.60±0.08 *vs* 1.13±0.15, 0.48±0.09 *vs* 0.85±0.13, 均$P<0.05$).

结论：隔药饼灸可能通过调节FGIDs(肝郁脾虚证)模型大鼠杏仁核和海马AMPA受体，使杏仁核和海马的“兴奋-抑制”失衡得到调整，从而达到治疗肝郁脾虚证FGIDs的目的.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 隔药饼灸; 功能性胃肠病; 肝郁脾虚证; α-氨基羟甲基恶唑丙酸受体; 大鼠

核心提示：通过实验观察分析，隔药饼灸能和α-氨基羟甲基恶唑丙酸(amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid)受体拮抗剂6-氰基-7-硝基喹喔啉-2,3-二酮(6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione)一样，通过调整海马与杏仁核“兴奋-抑制”失衡，而达到治疗功能性胃肠病(functional gastrointestinal disorders)肝郁脾虚的目的.

章海凤，刘未艾，常小荣，刘密，张国山，石佳. 隔药饼灸对功能性胃肠病(肝郁脾虚证)大鼠海马和杏仁核AMPA受体亚基表达的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(15): 1405-1411 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1405.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i15.1405

0 引言

谷氨酸是哺乳动物中枢神经系统中的主要兴奋性神经递质, 通过与相应谷氨酸受体结合, 介导中枢兴奋性突触传递. 突触传递速率改变由突触前膜神经递质数量和突触后膜相应受体数目决定. α-氨基羟甲基恶唑丙酸(amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid, AMPA)受体是介导中枢神经系统兴奋性突触传递的主要分子单位[1]. 其在突触后膜上的密度直接影响到突触传递的强度和神经元的兴奋性. 我们在前期实验中采用慢性束缚+过度疲劳+饮食失节法成功复制出肝郁脾虚证功能性胃肠病(functional gastrointestinal disorders, FGIDs)模型大鼠. 而既往研究表明[2], 肝郁脾虚证模型大鼠慢性束缚应激21 d可导致杏仁核兴奋, 海马抑制, 杏仁核区AMPA受体兴奋, 致海马区神经元受损, 二者失衡而致疾病发生. AMPA受体由相应的4个亚基(GluR1-4)交互排列围绕形成受体通道, 不同亚基组装的AMPA受体, 其调控方式和功能也不同[3]. 6-氰基-7-硝基喹喔啉-2,3-二酮(6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dine, CNQX)为AMPA受体拮抗剂, 杏仁核微量注射CNQX可以调节大鼠海马和杏仁核AMPA受体重要亚基的可塑性, 起到治疗作用. GluR3 mRNA在预实验中表达少, 结果不理想, GluR4 mRNA主要在嗅球的表达最多[4], 故本次研究分析GluR1和GluR2 2个亚基. 本试验拟从基因表达水平检测各组大鼠海马CA1区、CA3区、DG区和杏仁核BLA区AMPA受体代表性亚基GluR1和GluR2的变化, 观察隔药饼灸对FGIDs肝郁脾虚证中枢AMPA受体的影响, 研究隔药饼灸调节肝郁脾虚证FGIDs调节机制是否与CNQX的调节机制吻合. 以发现隔药饼灸调节FGIDs可能的调节通路. 这将为临床合理应用灸法治疗本病提供重要的实验依据.

1 材料和方法

1.1 材料 健康SD大鼠72只, 雌雄各半, 体质量220-250 g, 饲养温度20 ℃-25 ℃. 动物许可证号为SCXK(湘2009-0012), 由湖南东创公司提供. 随机分为A、B、C、D、E、F共6组, 每组12只, 即: 空白组(空白对照组)、模型组(FGIDs模型组)、隔药饼灸+CNQX组(隔药饼灸+杏仁核注射CNQX+模型组)、隔药饼灸组(隔药饼灸+杏仁核注射生理盐水+模型组)、CNQX组(杏仁核注射CNQX+模型组)、假手术组(杏仁核注射生理盐水+模型组). 所有动物均适应性喂养3 d. 脑立体定位仪(日本, 型号: SN-2); 牙科钻(南京金恒川电子有限, 型号: MF4G); 0.5 μL微量注射器(上海安亭向量进样器厂); Forma Scientific超低温冰箱(美国); 乌拉坦(上海化学试剂公司); 台式冷冻离心机(湘仪, TGL-16); 电泳仪(北京六一, DYY-6C); 电泳槽(北京六一, DYCZ-24EN); 转膜仪(北京六一, DYCZ-40A); 旋涡混合器(其林贝尔, QL-901); Western blot试剂盒(购自维尔生物科技有限公司); 东方1型“神灸300灸”艾炷(苏州东方艾绒厂); CNQX剂(美国, Sigma生产); DMSO溶剂(美国, Sigma生产).

1.2 方法

1.2.1 艾炷、药饼及艾灸: 隔药饼选用白术(炒)、白芍(炒)、 陈皮(炒)、防风(炒)、柴胡(湖南中医药大学第一附属医院药房购置)各等份碾成粉末, 使用时加入适量冰片和氮酮, 用醋调成糊状, 通过自制的艾灸底座模具捏压成厚约2 mm, 直径为1.0 cm±0.2 cm的药饼. 隔药饼灸方法: 第Ⅰ组选穴为肝俞(双)、脾俞(双)、足三里(双)共6穴, 第Ⅱ组选穴为期门(双)、章门(双)、中脘共5穴. 取穴定位参照《实验针灸学》[5]及拟人比照法制订. 取穴定位后剪毛, 用细绳将已经做好药饼的底座固定在穴位上, 将艾炷放在药饼上, 点燃施灸, 待艾炷燃完且余热散尽后, 再换另1壮, 每穴连续灸5壮(约30 min), 1次/d, Ⅰ组、Ⅱ组穴位隔日交替施灸, 连续治疗21 d.

1.2.2 配制CNQX溶液: 5 mg CNQX溶入1000 M1 DMSO和4000 μL 0.9%生理盐水的混合液中, 即0.5 μL CNQX溶液含0.5 μg CNQX.

1.2.3 造模方法: 空白组正常饲养. 其余5组采用慢性束缚应激+过度疲劳+饮食失节方法[6]造模, 大鼠于每天上午8:00置于束缚盒中限制3 h, 同时夹尾30 min、摇晃5 min, 下午2:00置于盛有温水(22 ℃±1 ℃)的大塑料桶中游泳10 min. 隔日喂食(隔日禁食, 隔日足量给食), 连续21 d; 每次开始造模前30 min, 隔药饼灸组和隔药饼灸+CNQX组隔药饼灸5壮, 其余各组大鼠只捆绑不施灸, 连续21 d. 除空白组和模型组外, 其余4组于第22 d开始手术. 隔药饼灸组和假手术组双侧杏仁核分别微量注射生理盐水0.5 μL, 隔药饼灸+CNQX组和CNQX组杏仁核(双)分别微量注射CNQX溶液0.5 μL(杏仁核注射位点[7]: 300-350 g

■相关报道

近年来许多学者认为精神心理因素与FGIDs的发生和发展中密切相关. AMPA受体拮抗剂可以通过阻断杏仁核BLA区AMPA受体兴奋性, 对海马神经元起保护作用.

■创新盘点

本文从FGIDs与精神心理因素密切相关，以FGIDs肝郁脾虚模型大鼠为受试对象，从隔药饼灸调节杏仁核和海马的“兴奋-抑制”失衡，重建稳态，探讨隔药饼灸干预FGIDs肝郁脾虚症中枢调节机制是否与AMPA受体拮抗剂CNQX相似.

表 1 各组大鼠海马CA1区及杏仁核区GluR1蛋白表达 (n = 6, mean ± SD)

分组	海马CA1区	杏仁核区
A组(空白组)	0.46 ± 0.17	0.44 ± 0.22
B组(模型组)	1.05 ± 0.13[a]	0.95 ± 0.22[a]
C组(隔药饼灸+CNQX组)	0.33 ± 0.08[c]	0.31 ± 0.18[c]
D组(隔药饼灸组)	0.59 ± 0.14[c]	0.46 ± 0.09[c]
E组(CNQX组)	0.49 ± 0.14[c]	0.47 ± 0.13[c]
F组(假手术组)	0.95 ± 0.18[a]	0.90 ± 0.23[a]

[a]P<0.05 *vs* 空白组; [c]P<0.05 *vs* 模型组. CNQX: 6-氰基-7-硝基喹喔啉-2,3-二酮.

SD male rats: AP = -2.5 mm, L = ±4.4 mm, DV = -7.9 mm). 手术后前3 d每天进行大鼠腹腔注射青毒素2万单位, 自由进饮食水共5 d. 第25天(CNQX半衰期5 d)做行为学观察, 第26天麻醉后, 冰上取大鼠海马、杏仁核进行检测.

1.2.4 取材方法: 大鼠用20%乌拉坦以10 mL/kg腹腔注射进行麻醉, 处死后迅速用铡刀铡断鼠头, 冰上纵向剪开大鼠头部背侧头皮, 分离显露颅骨. 用弯止血钳顺大鼠枕骨大孔仔细咬除背侧颅骨, 显露大鼠脑部, 完整剥离鼠脑(后自视交叉, 前自嗅球处分离), 无菌剥离双侧海马CA1区和杏仁核, 分别放入1.5 mL灭菌的离心管中, 速入-80 ℃超低温冰箱中保存待测.

1.2.5 观察指标及检测方法: 采用Western blot方法检测大鼠海马CA1区和杏仁核GluR1、GluR2的蛋白表达. (1)样品制备: 剪取0.25 g的组织块, 冰预冷PBS洗涤1次, 500 Ml RIPA裂解, 匀浆, 离心; (2)蛋白浓度检测: 按照BCA蛋白定量试剂盒使用说明操作, 测定蛋白浓度; (3)电泳: 配10%-12%分离胶, 加入TEMED, 灌胶, 封胶, 配4%浓缩胶, 加TEMED灌胶, 梳子插入浓缩胶中; 每个样品总蛋白上50-100 μg, 上样, 开始电泳. 浓缩胶电泳电压为80 V, 分离胶电泳电压为120 V; (4)转膜: 接通电源, 转膜约2 h, TBS-T中洗1次, 用丽春红染膜, TBS-T将丽春红洗净; (5)封闭: 用TBST配制5%脱脂奶粉, 将膜浸入后, 室温放置1 h; (6)一抗孵育: 用封闭液将一抗按照一定比例稀释, 将膜与一抗一起孵育, 4 ℃过夜, TBS-T洗3次; (7)二抗孵育: 用封闭液按1∶3000稀释HRP标记的二抗(Proteintech)与膜共同孵育45-60 min, TBS-T洗3次; (8)ECL显色曝光: 使用ECL化学发光液与膜孵育3 min, 去液, 保鲜膜包

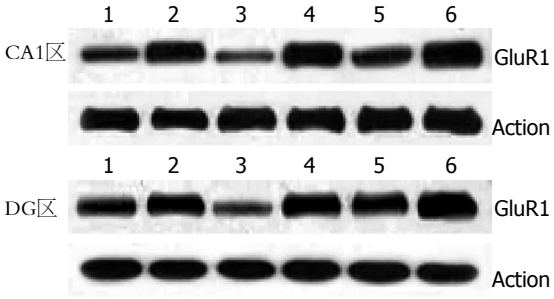


图 1 GluR1在各区蛋白表达. 1: 空白组; 2: 模型组; 3: 隔药CNQX组; 4: 隔药饼灸组; 5: CNQX组; 6: 假手术组. CNQX: 6-氰基-7-硝基喹喔啉-2,3-二酮.

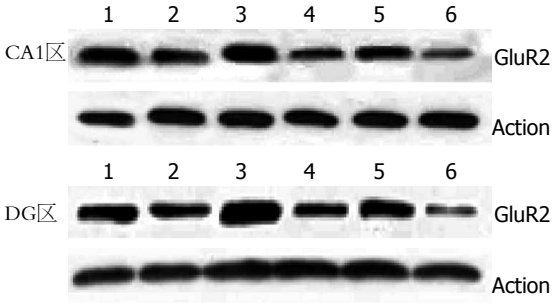


图 2 GluR2在各区蛋白表达. 1: 空白组; 2: 模型组; 3: 隔药CNQX组; 4: 隔药饼灸组; 5: CNQX组; 6: 假手术组. CNQX: 6-氰基-7-硝基喹喔啉-2,3-二酮.

裹杂交膜, 在暗盒内与X胶片曝光, 显影冲洗; (9)将曝光后的底片扫描后进行数据分析.

统计学处理 所有数据用mean±SD表示, 采用SPSS16.0软件进行处理, 用单因素方差分析(one-way ANOVA)进行统计处理, 组间比较采用SNK检验, P<0.05具有统计学意义.

2 结果

2.1 各组大鼠海马CA1区及杏仁核区GluR1蛋白表达 由表1及图1可以看出: 在海马CA1区, 与空白组相比, 模型组和假手术组均有统计学意义(P<0.05), 且均较空白组增高, 模型组与假手术组差异无统计学意义(P>0.05); 与模型组相比, 隔药饼灸组、隔药饼灸+CNQX组和CNQX组差异均有统计学意义(P<0.05); 与CNQX组相比, 隔药饼灸+CNQX组差异无统计学意义(P>0.05). 在杏仁核区, 与空白组相比, 模型组和假手术组均有统计学意义(P<0.05), 且均较空白组减少, 模型组与假手术组差异无统计学意义(P>0.05); 与模型组相比, 隔药饼灸组、隔药饼灸+CNQX组和CNQX组差异均有统计学意义(均P<0.05), 且较模型组增多, 隔药饼灸+CNQX组GluR1表达最低; 隔药饼灸+CNQX组与CNQX组间差异无

表 2 各组大鼠海马CA1区及杏仁核区GluR2蛋白表达的变化 (n = 4, mean ± SD)

分组	海马CA1区	杏仁核区
A组(空白组)	0.84 ± 0.18	0.71 ± 0.13
B组(模型组)	0.33 ± 0.08[a]	0.29 ± 0.04[a]
C组(隔药饼灸+CNQX组)	1.13 ± 0.15[ce]	0.85 ± 0.13[ce]
D组(隔药饼灸组)	0.76 ± 0.13[c]	0.46 ± 0.08[c]
E组(CNQX组)	0.60 ± 0.08[c]	0.48 ± 0.09[c]
F组(假手术组)	0.27 ± 0.06[a]	0.23 ± 0.06[a]

[a]P<0.05 *vs* 空白组; [c]P<0.01 *vs* 模型组; [e]P<0.01 *vs* CNQX组. CNQX: 6-氰基-7-硝基喹喔啉-2,3-二酮.

统计学意义(P>0.05).

2.2 各组大鼠海马CA1区及杏仁核区GluR2蛋白的表达 由表2及图2可以看出: 在海马CA1区, 与空白组相比, 模型组和假手术组均有统计学意义(P<0.05), 且均较空白组减少, 模型组与假手术组差异无统计学意义(P>0.05); 与模型组相比, 隔药饼灸组、隔药饼灸+CNQX组和CNQX组差异均有统计学意义(P<0.05), 且隔药饼灸+CNQX与CNQX组差异有统计学意义(P<0.05). 在杏仁核BLA区, 与空白组比较, 模型组与假手术组差异有统计学意义(均P<0.05), 且较空白组减少, 模型组与假手术组差异无统计学意义(P>0.05); 与模型组比较, 隔药饼灸组、隔药饼灸+CNQX组和CNQX组差异有统计学意义(均P<0.05), 且较模型组增多, 隔药饼灸组GluR2表达最低; 与CNQX组相比, 隔药饼灸+CNQX组差异有统计学意义(P<0.05).

3 讨论

FGIDs是指具有腹胀、腹痛、腹泻及便秘等消化系统症状, 但缺乏器质性疾病(如胃炎、肠炎等)或其他证据的一组疾病. 祖国医学中没有FGIDs的病名, 根据其临床表现而将其归属于“胃脘痛”、“嘈杂”、“痞满”、“反酸”、“泄泻”等范畴. 叶天士在《临证指南医案》中指出: “肝病必犯土, 是侮其所胜也, 克脾则腹胀, 便溏或不爽”. 《医方考》又云: “泻责之脾, 痛责之肝, 肝责之实, 脾责之虚, 脾虚肝实, 故令痛泻. ”可见肝气郁结, 失于疏泄, 横逆犯脾, 致脾失健运, 运化水湿失职, 清浊不分, 混杂而下, 出现腹胀、腹痛、腹泻等症状. 故肝郁脾虚是该病的病理本质.

流行病学调查显示: 该病在普通人群的患病率为34.6%, 就诊率达62.1%, 在胃肠门诊中, 约42%-61%FGIDs患者存在心理障碍, 常表现为焦虑、抑郁等症状[8,9]. 可见精神、心理因素在FGIDs病中起着十分重要的作用, 精神、心理社会因素一方面作为易感因素影响该病的发生, 另一方面又决定了该病的临床表现和转归[10]. 精神、心理社会因素又与中医情志变化因素高度一致. 在本实验中对大鼠采用慢性束缚+过度疲劳+饮食失节的方法造模21 d, 使肝郁日久, 木郁乘土, 致肝脾不和, 脾失健运, 机体气血功能紊乱, 由气及血、由实转虚而出现的病理变化, 符合机体功能紊乱而未出现器质性病变的病变过程. 肝主疏泄功能与大脑边缘系统关系十分密切, 大脑的边缘系统是人动机和情绪形成关系密切的区域, 而海马和杏仁核是边缘系统的主要组成部分, 一方面接受内外环境的刺激, 及时做出反应; 另一方面接受体内状态的反馈信息, 调整其状态, 产生适应性反应[11], 使机体情绪得以正常表达, 生理功能得以正常执行. AMPA受体分布于突触后膜, 是十分重要的调节杏仁核和海马输入信号的突触后处理场所, 在中枢神经系统介导下调整兴奋性神经传递, 对突触可塑性尤其是长时程增强(long-term potentiation, LTP)起着重要的作用[12]. AMPA受体由GluR1-4组成, 慢性束缚应激使海马GluR1增加, LTP受损, 学习、记忆受损, 大鼠活动下降, 直接对大鼠的行为负责; 使GluR2下降, Ca^{2+}异常通透, Ca^{2+}内流, 锥体细胞凋亡, 海马神经元受损[13,14]. 有研究表明, AMPA受体拮抗剂可以通过阻断杏仁核BLA区AMPA受体兴奋性, 对海马神经元起保护作用[2]. 海马和杏仁核是边缘系统的重要组成部分, 共同参与个体情绪、自主活动及内分泌调节过程, 从解剖生理学看, 海马和杏仁核可通过内侧穿通支-齿状回有神经支配关系[15]. 因此, 海马与杏仁核之间关系十分密切.

在本研究实验中, 在海马CA1区及杏仁核BLA区, 与空白组相比, 模型组有明显差异, 在海马CA1区和杏仁核BLA区GluR1表达增高, GluR2表达下降, GluR1和GluR2这两个指标在海马和杏仁核变化趋势均相反, 这与以往研究相符合, 慢性束缚应激+过度疲劳+饮食失节所致肝郁脾虚证FGIDs模型大鼠海马抑制、杏仁核兴奋, 这与既往研究结果相符合[4], 表明采用AMPA受体拮抗剂可能使杏仁核基底外侧区传出神经元兴奋性受到抑制, 而减少对海马神经元的损害. 模

■名词解释
功能性胃肠病: 具有腹胀、腹痛、腹泻及便秘等消化系症状, 但缺乏器质性疾病(如胃炎、肠炎等)的或其他证据的一组疾病.

■同行评价
本文设计较好, 有原创性, 具有一定指导意义.

型组与假手术组间无明显差异, 说明手术创伤对GluR1、GluR2蛋白表达影响均不大, 有可能是复合病因造模21 d已经适应, 可能已经存在代偿机制, 故手术创伤这种急性应激并未对海马、杏仁核AMPA受体产生影响. CNQX为AMPA受体拮抗剂. 与模型组相比, 在海马CA1区、杏仁核BLA区, 隔药饼灸组、隔药饼灸+CNQX组和CNQX组GluR1和GluR2表达差异均有统计学意义(P<0.05), 但GluR1和GluR2表达相反, GluR1表达下降, GluR2表达增多, 说明隔药饼灸同CNQX一样, 能达到抑制杏仁核兴奋性而保护海马的作用. 此外, 我们还发现, 在海马CA1区和杏仁核BLA区, 虽然隔药饼灸+CNQX组与CNQX组差异无统计学意义, 但隔药饼灸+CNQX组GluR1表达最低，而对于GluR2表达, 隔药饼灸+CNQX组与CNQX组有明显差异, 且隔药饼灸+CNQX组表达最多, 这说明隔药饼灸+CNQX组因为增加了隔药饼灸的治疗可能翻转了单纯CNQX的治疗作用. 上述研究说明隔药饼灸对FGIDs模型大鼠海马和杏仁核AMPA受体亚基基因表达的调节机制可能和CNQX的调节机制吻合, 隔药饼灸可能通过调节FGIDs(肝郁脾虚证)模型大鼠杏仁核和海马AMPA受体, 使杏仁核和海马的“兴奋-抑制”失衡得到调整, 从而达到治疗肝郁脾虚证FGIDs的目的.

灸法是中医学瑰宝之一, 具有温经散寒、行气通络、扶阳固脱、升阳举陷等作用, 用于治疗各科疾病, 有“灸治百病”之说. 隔药饼灸属于灸法中的间接灸, 是针灸疗法的重要组成部分, 通过艾灸的热力作用, 将药物的有效成分透过皮肤渗入腧穴, 由艾灸燃烧时的物理因子和药饼的药化因子, 与腧穴的特殊作用、经络的特殊途径相结合, 而产生的一种“综合效应”, 即达到疏通经络、调和气血、调理脏腑的功能. 在治疗慢性病、疑难病及预防保健方面具有显著优势, 而艾灸治疗疾病时产生的温热效应是取得疗效的关键[16]. 本课题组在近年开展了隔药饼灸治疗消化系疾病(如功能性消化不良等)的临床观察研究, 根据FGIDs肝郁脾虚病理机制, 从疏肝健脾入手, 取补脾胜湿而止泻, 柔肝理气而止痛, 使脾健肝柔, 痛泻自止的白术(炒)、白芍(炒)、 陈皮(炒)、防风、柴胡等药物作为药饼的主要成份, 并加入促透剂氮酮、冰片帮助透皮吸收. 白术燥湿健脾, 白芍养血泻肝, 陈皮理气醒脾, 防风散肝舒脾, 柴胡疏肝解郁, 诸药配伍, 可以补脾土而泻肝木, 调气机以止痛泻. 在选穴方面, 俞、募与脏腑的关系密切, 故取肝之背俞穴以疏肝理气解郁, 肝之募穴期门以助疏肝解郁, 调畅肝经气机而止痛止泻; 取脾之背俞穴脾俞以健脾益气, 脾之募穴章门以健脾和胃, 升清降浊; 《灵枢•邪气藏府病形篇》: “合治内腑”, 《灵枢•四时气篇》: “邪在腑, 取之合”, 再选取足阳明胃经下合穴、合穴足三里及腑会中脘调理脾胃; 诸穴合用共奏疏肝解郁、健脾和胃、调理气机、祛湿止泻之功, 从而使痛消泻止, 达到治疗肝郁脾虚证FGIDs的目的, 丰富了临床治疗本病的治疗方法.

4 参考文献

1 Esteban JA. AMPA receptor trafficking: a road map for synaptic plasticity. *Mol Interv* 2003; 3: 375-385 [PMID: 14993459 DOI: 10.1124/mi.3.7.375]
2 岳利峰, 陈家旭, 王大伟, 霍素坤, 岳广欣, 梁媛, 李晶晶. 逍遥散对肝郁脾虚证模型大鼠海马和杏仁核AMPA受体亚基基因表达的影响. 北京中医药大学学报 2009; 32: 810-814
3 Bredt DS, Nicoll RA. AMPA receptor trafficking at excitatory synapses. *Neuron* 2003; 40: 361-379 [PMID: 14556714 DOI: 10.1016/S0896-6273(03)00640-8]
4 Sans N, Racca C, Petralia RS, Wang YX, McCallum J, Wenthold RJ. Synapse-associated protein 97 selectively associates with a subset of AMPA receptors early in their biosynthetic pathway. *J Neurosci* 2001; 21: 7506-7516 [PMID: 11567040 DOI: 10.1016/j.epilepsyres.2005.03.012]
5 李忠仁. 实验针灸学. 北京: 中国中医药出版社, 2003: 314-319
6 岳利峰, 丁杰, 陈家旭, 岳广欣, 梁媛, 霍素坤, 李晶晶. 肝郁脾虚证大鼠模型的建立与评价. 北京中医药大学学报 2008; 31: 394-399
7 Mohammad-Zadeh M, Amini A, Mirnajafi-Zadeh J, Fathollahi Y. The role of adenosine A(1) receptors in the interaction between amygdala and entorhinal cortex of kindled rats. *Epilepsy Res* 2005; 65: 1-9 [PMID: 16005611 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2002.05783.x]
8 Koloski NA, Talley NJ, Boyce PM. Epidemiology and health care seeking in the functional GI disorders: a population-based study. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2290-2299 [PMID: 12358247 DOI: 10.1016/S0166-2236(02)02270-1]
9 邱慧彬, 孙涛, 金博. 精神心理因素与功能性胃肠病的研究进展. 医学综述 2011; 17: 2143-2145
10 张立民, 么金平. 功能性胃肠病患者精神心理因素调查. 中国误诊学杂志 2011; 11: 5032
11 岳广欣, 陈家旭, 王竹风. 肝主疏泄的生理学基础探讨. 北京中医药大学学报 2005; 28: 1-4
12 Song I, Huganir RL. Regulation of AMPA receptors during synaptic plasticity. *Trends Neurosci* 2002; 25: 578-588 [PMID: 12392933 DOI: 10.1016/S0092-8674(03)00122-3]
13 Lee HK, Takamiya K, Han JS, Man H, Kim CH, Rumbaugh G, Yu S, Ding L, He C, Petralia RS, Wenthold RJ, Gallagher M, Huganir RL. Phosphorylation of the AMPA receptor GluR1 subunit is required for synaptic plasticity and retention

of spatial memory. *Cell* 2003; 112: 631-643 [PMID: 12628184 DOI: 10.1016/j.tins.2007.01.006]
14 Liu SJ, Zukin RS. Ca2+-permeable AMPA receptors in synaptic plasticity and neuronal death. *Trends Neurosci* 2007; 30: 126-134 [PMID: 17275103]
15 McEwen BS. Allostasis and allostatic load: implications for neuropsychopharmacology. *Neuropsychopharmacology* 2000; 22: 108-124 [PMID: 10649824 DOI: 10.1016/S0893-133X(99)00129-3]
16 刘密, 彭艳, 常小荣, 严洁, 易受乡, 林亚平, 岳增辉. 艾灸温热效应的生物物理学特性研究进展. 湖南中医药大学学报 2010; 30: 76-78

编辑 田滢 电编 鲁亚静

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》修回稿须知

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

1 修回稿信件

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

2 稿件修改

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

3 版权

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

世界华人消化杂志 2013年5月28日; 21(15): 1412-1416
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

应用聚桂醇经BRTO治疗孤立性胃底静脉曲张23例

赵东强, 姜慧卿, 马俊骥, 王晓经, 刘增品, 赵 琳, 张 楠

■背景资料
孤立性胃底静脉曲张(isolated gastric varices, IGV)是食管胃静脉曲张的一种特殊类型, 目前治疗存在风险高、疗效差及易复发等问题.

赵东强, 姜慧卿, 马俊骥, 王晓经, 河北医科大学第二医院消化内科 河北省消化病实验室 河北省消化病研究所 河北省石家庄市 050000
刘增品, 赵琳, 张楠, 河北医科大学第二医院导管室 河北省石家庄市 050000
赵东强, 副主任医师, 主要从事消化系疾病的内镜诊治以及介入治疗.
作者贡献分布: 此课题由赵东强与姜慧卿设计; 研究过程由姜慧卿指导; 赵东强、刘增品、赵琳及张楠完成; 数据分析与论文写作由赵东强、马俊骥及王晓经完成.
通讯作者: 赵东强, 副教授, 副主任医师, 硕士生导师, 050000, 河北省石家庄市新华区和平西路215号, 河北医科大学第二医院消化内科. zdq1998@yahoo.cn
电话: 0311-66002951
收稿日期: 2013-03-25 修回日期: 2013-04-04
接受日期: 2013-04-12 在线出版日期: 2013-05-28

Treatment of isolated gastric varices by balloon-occluded retrograde transvenous obliteration using lauromacrogol: An analysis of 23 cases

Dong-Qiang Zhao, Hui-Qing Jiang, Jun-Ji Ma, Xiao-Jing Wang, Zeng-Pin Liu, Lin Zhao, Nan Zhang

Dong-Qiang Zhao, Hui-Qing Jiang, Jun-Ji Ma, Xiao-Jing Wang, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University; Hebei Key Laboratory of Gastroenterology; Heibei Institute of Gastroenology, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China
Zeng-Pin Liu, Lin Zhao, Nan Zhang, Catheter Room of the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China
Correspondence to: Dong-Qiang Zhao, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, 215 Heping West Road, Xinhua District, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China. zdq1998@yahoo.cn
Received: 2013-03-25 Revised: 2013-04-04
Accepted: 2013-04-12 Published online: 2013-05-28

Abstract

AIM: To evaluate the efficacy and safety of lauromacrogol in treating isolated gastric varices by balloon-occluded retrograde transvenous obliteration (BRTO).

METHODS: The clinical data for 23 patients who were diagnosed with isolated gastric varices with gastrorenal shunt and treated by BRTO using lauromacrogol from November 2009 to September 2012 were retrospectively analyzed. The clinical efficacy, safety and complications of this procedure were evaluated.

RESULTS: The procedure was successful in 21 cases. Hypotension and sinus bradycardia were observed intraoperatively in three cases and disappeared when the balloon was withdrawn. No complications such as ascites and hepatorenal function exacerbation occurred after the operation. Endoscopic examination at 3 mo after the procedure showed that varices disappeared in 13 cases, remarkably decreased in size in 6 cases, and had no significant changes in 2 cases. During 3 to 18 mo of follow-up, no bleeding was observed.

CONCLUSION: BRTO using lauromacrogol is effective and safe in treating isolated gastric varices with gastrorenal shunt.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Isolated gastric varices; Balloon-occluded retrograde transvenous obliteration; Lauromacrogol; Gastrorenal shunt

Zhao DQ, Jiang HQ, Ma JJ, Wang XJ, Liu ZP, Zhao L, Zhang N. Treatment of isolated gastric varices by balloon-occluded retrograde transvenous obliteration using lauromacrogol: An analysis of 23 cases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(15): 1412-1416 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1412.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i15.1412

摘要

目的: 评价应用聚桂醇经球囊导管逆行经静脉栓塞(balloon-occluded retrograde transvenous obliteration, BRTO)治疗孤立性胃底静脉曲张(isolated gastric varices, IGV)的疗效及安全性.

方法: 回顾性分析2009-11/2012-09我院伴有胃肾分流的IGV患者23例, 应用聚桂醇进行BRTO治疗, 观察其疗效及安全性.

结果: 经BRTO治疗成功患者21例. 术中3例患

■同行评议者
姜慧卿, 教授, 河北医科大学第二医院消化科

者发生低血压及窦性心动过缓, 后经多巴胺及山莨菪碱等药物治疗及撤除球囊压迫后好转. 术后无腹水及肝肾功能的加重. 术后3 mo胃镜复查静脉曲张消失13例, 明显减轻6例, 无改变2例. 患者随访3-18 mo, 无消化系出血发生.

结论: 应用聚桂醇经BRTO治疗伴有胃肾分流的孤立性胃底静脉曲张, 具有良好的临床疗效和安全性.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 孤立性胃底静脉曲张; 球囊导管逆行经静脉栓塞; 聚桂醇; 胃肾分流

核心提示: 胃底静脉曲张(gastric varices)是门脉高压症所引起的一种相对少见的静脉曲张, 患者门静脉与腔静脉之间常具有特殊的静脉分流, 其中以胃肾分流最为多见. 对于存在胃肾分流的孤立性胃底静脉曲张(isolated gastric varices)出血患者, 应用硬化剂聚桂醇通过经球囊导管逆行经静脉栓塞(balloon-occluded retrograde transvenous obliteration)进行治疗, 疗效肯定, 安全性高.

赵东强, 姜慧卿, 马俊骥, 王晓经, 刘增品, 赵琳, 张楠. 应用聚桂醇经BRTO治疗孤立性胃底静脉曲张23例. 世界华人消化杂志 2013; 21(15): 1412-1416 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1412.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i15.1412

0 引言

食管胃底静脉曲张破裂所引起的上消化道出血是门脉高压症的严重并发症之一, 目前内镜下的套扎、硬化及组织黏合剂注射技术已经广泛用于静脉曲张出血的治疗, 并取得了肯定的效果, 但对于孤立性胃底静脉曲张(isolated gastric varices, IGV)的治疗, 仍存在风险高、疗效差及易复发等问题, IGV患者门静脉系统与腔静脉之间常常存在胃肾等静脉分流是其主要原因. 我院对存在胃肾静脉分流的23例结节样、瘤样IGV患者, 应用硬化剂聚桂醇行球囊导管逆行经静脉栓塞(balloon-occluded retrograde transvenous obliteration, BRTO)术进行治疗, 取得了满意的疗效, 现总结报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取河北医科大学第二医院2009-11/2012-09因上消化道出血入院并确诊为门脉高压症、孤立性胃底静脉曲张、胃肾静脉分流患者23例, 其中男10例, 女13例, 年龄45-71岁, 平均年龄57岁. 乙型肝炎肝硬化失代偿期14例, 丙肝肝硬化失代偿期3例, 酒精性肝硬化4例, 门静脉海绵样变2例. 肝功能Child-Pugh分级, A级9例, B级11例, C级3例. Olympus GIF XQ-240、GIF H-260电子胃镜, 静脉穿刺针、导管及球囊购自美国Cook公司.

1.2 方法 所有患者术前均行胃镜检查明确为结节样或瘤样孤立性胃底静脉曲张, 并进行CT及门脉CTA检查发现存在胃肾静脉分流. BRTO的操作程序: 患者取平卧位, 常规腹股沟区消毒铺单, 1%利多卡因局部浸润麻醉, 经右侧股静脉穿刺成功后置入5F血管鞘, X线透视下, 在超滑导丝引导下将4Fver造影导管插至左侧肾静脉成功后, 行逆行造影显示左侧肾静脉及胃肾分流静脉. 进一步将4Fver造影导管超选至胃肾分流静脉远心端, 再次造影以明确胃肾分流静脉及曲张的胃底静脉, 根据患者体质量给予相应肝素(平均约为3000单位)以达到全身肝素化. 通过造影导管置入交换导丝于胃肾分流静脉近心端后, 沿交换导丝置入12 mm×40 mm球囊于胃肾分流静脉, 并持续扩张球囊, 同时根据胃底曲张静脉的程度, 通过球囊内腔缓慢推注聚桂醇20-30 mL. 注射硬化剂后留置充盈球囊阻塞胃肾分流静脉3 h, 以维持聚桂醇作用时间, 保证硬化效果. 在操作过程中, 监测患者血压、脉搏、心电、指脉氧. 术毕抽空并撤出球囊, 拔除5F导管鞘, 穿刺点压迫止血, 确认无活动性出血后, 穿刺部位加压包扎.

2 结果

2.1 BRTO治疗情况 23例患者中, 采用下腔静脉穿刺途径行胃肾分流静脉插管成功(n = 19), 余患者(n = 4)改用经颈静脉穿刺途径插管成功(n = 2)、失败(n = 2)(图1). 术中患者(n = 3)出现窦性心动过缓及血压下降, 术中静点盐酸消旋山莨菪碱及多巴胺后好转, 术后解除球囊压迫心率及血压恢复正常. 所有患者无腹痛、腹胀、胸闷、呼吸困难及意识障碍. 穿刺及造影时间最短25 min, 最长110 min.

2.2 内镜下表现 BRTO治疗成功患者(n = 21)内镜复查, 治疗后1 mo胃底曲张静脉基本消失(n = 5), 明显减轻(n = 11), 无明显变化(n = 5). 治疗后3 mo胃底曲张静脉基本消失(n = 13), 明显减轻(n = 6), 无明显变化(n = 2)(图2).

2.3 肝、肾功能及血、尿常规监测 发生术后低

■研发前沿
球囊导管逆行经静脉栓塞(balloon-occluded retrograde transvenous obliteration, BRTO)技术是通过门脉高压患者的胃肾分流静脉逆行栓塞治疗胃底曲张静脉, 适用于存在胃肾静脉分流的IGV的治疗.

■相关报道
Kanagawa等在1991年首先报道了BRTO技术. 目前在日本与韩国, BRTO已成为胃静脉曲张出血的规范治疗, 静脉曲张的消除率是75%-100%. 国内目前BRTO治疗尚未广泛开展, 仅见几家医院的少量病例报道, 并多采用不良反应较多的鱼肝油酸钠进行治疗.

■创新盘点

硬化剂聚桂醇已广泛用于食管静脉曲张、下肢静脉曲张及血管瘤的硬化治疗, 有良好的疗效及安全性, 但聚桂醇通过BRTO治疗胃底静脉曲张的治疗目前国内外未见报道. 此研究证实采用聚桂醇通过BRTO治疗IGV, 疗效肯定, 安全性高.

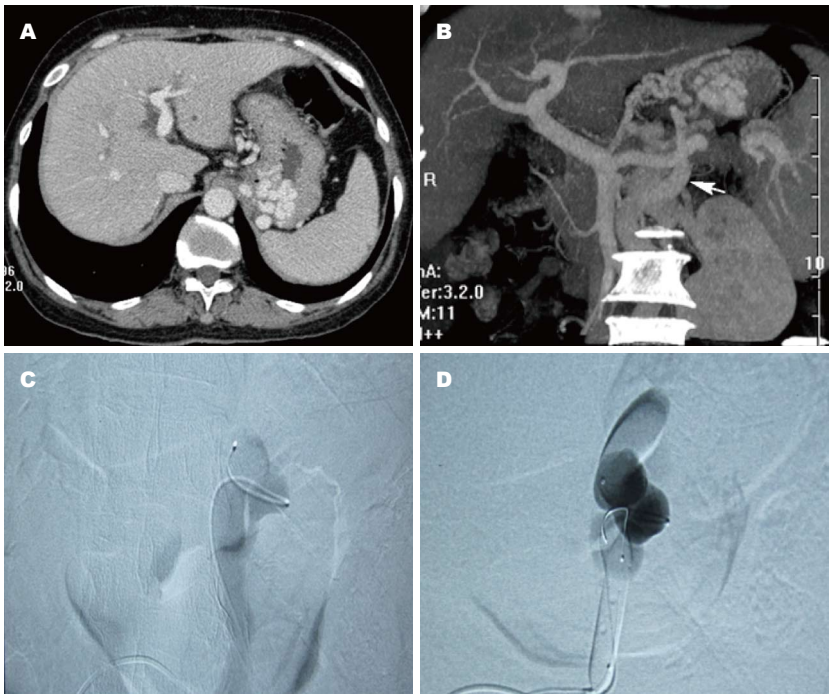


图 1 IGV的CT、CTA表现及BRTO治疗过程. A:上腹CT显示IGV; B: 门静脉CTA可见胃肾分流静脉; C: BRTO术中显示胃肾分流静脉; D: BRTO术中注射聚桂醇硬化治疗IGV. IGV: 孤立性胃底静脉曲张.

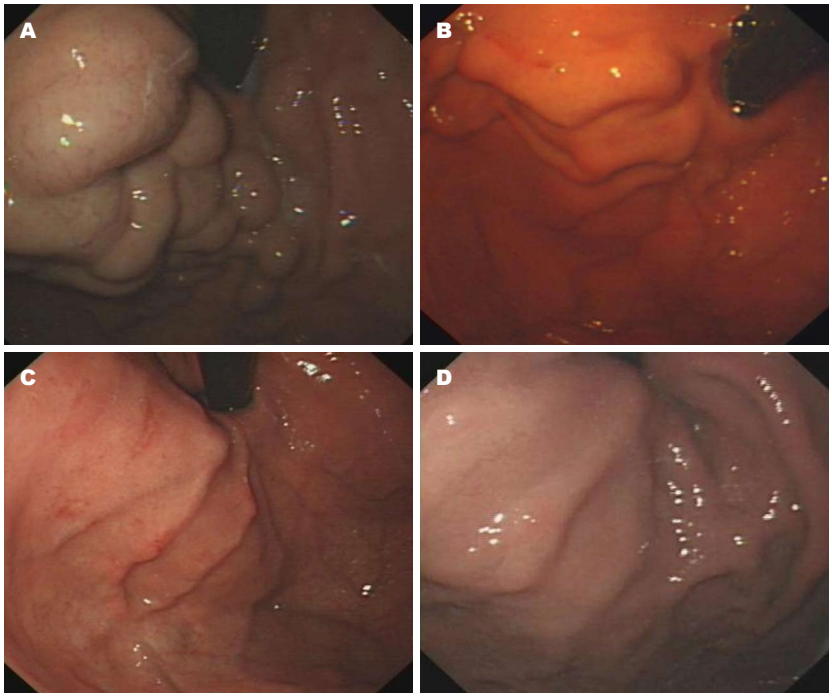


图 2 IGV治疗前及治疗后的内镜下表现. A: 治疗前IGV(呈瘤样、结节样); B: 治疗1 mo后; C: 治疗3 mo后; D: 治疗12 mo后. IGV: 孤立性胃底静脉曲张

热及白细胞(white blood cell, WBC)轻度升高患者(n = 3), 经一般抗感染治疗后情况好转, 所有患者无腹水及肝肾功能的加重, 无尿常规的明显改变.

2.4 *术后随访* 除BRTO未成功患者(n = 2)外, 治疗成功患者(n = 21)随访3-18 mo, 均无上消化道出血发生.

3 讨论

在门脉高压症所引起的食管胃静脉曲张中, IGV约占5%-12%, 其特点是静脉曲张局限在胃底或贲门区, 胃镜下呈结节样或瘤样, 不伴有明显的食管静脉曲张[1]. IGV出血凶险、死亡率高, 其治疗目前国内主要采用内镜下组织黏合剂的注射术, 但存在治疗难度大、效果差及风险高的问题[2], 其原因主要是IGV患者常存在特殊的、广泛的门腔侧枝循环, 包括胃肾静脉分流, 胃膈静脉分流及胃心包静脉分流等, 其中最常见也是最主要的是胃肾静脉分流, 文献报道约70%-84%的IGV患者具有胃肾静脉分流[3,4]. 内镜

下IGV患者曲张静脉内注射组织黏合剂及碘油, 可能通过胃肾等静脉分流道进入下腔静脉并引起致命性的脏器栓塞.

胃肾分流静脉是门脉高压较为常见的门体分流侧支, 是胃底曲张静脉和腔静脉系统的直接通道, 这为通过腔静脉系统微创介入治疗胃底静脉曲张提供了可能[5]. Kanagawa等[6]在1991年首先报道了BRTO, 证实BRTO治疗胃静脉曲张出血效果满意, 该技术是通过门脉高压患者的胃肾分流静脉逆行栓塞治疗胃底曲张静脉, 适用于存在胃肾静脉分流的胃底静脉曲张患者. 在日本与韩国, 目前BRTO已成为胃静脉曲张出血的规范治疗, 其手术成功率为79%-100%, 静脉曲张的消除率是75%-100%[7]. Sonomura等[8]应用微导管技术对56例胃静脉曲张出血患者行BRTO成功后, 随访10 mo, 发现51例完全闭塞, 5例部分闭塞. Takaji等[9]对69例患者BRTO治疗前后进行CT随访显示, 58例患者(84%)形成完全栓塞, 完全栓塞静脉中未发现静脉曲张加重及复发. Nihoi等[10]研究显示82例接受治疗的患者中78例(95%)胃底静脉曲张完全消退, 术后5年累计复发率和再血率分别为2.7%和1.5%, 术后1、3、5年累计存活率分别为93%、76%和54%.

国外文献报道胃静脉曲张的BRTO治疗中, 应用的硬化剂多为5%乙醇胺油酸盐(ethanolamine oleate iopamidol, EOI), 因EOI有肾毒性, 患者可能出现肾功能损害、血红蛋白尿等, 一般需要术前输注庚珠蛋白(heptoglobin)以中和乙醇胺油酸盐的肾毒性, 术后需要监测肾功能[11]. 国内目前BRTO治疗尚未广泛开展, 仅见几家医院的少量病例报道, 并多采用不良反应较多的鱼肝油酸钠进行治疗[12-14].

国产硬化剂聚桂醇, 化学名为聚氧乙烯月桂醇醚, 与乙氧硬化醇的分子式与分子量完全相同, 其药理作用是在静脉注射后损伤血管内皮, 引起静脉内膜炎并导致内膜肿胀、血栓形成, 最终引起静脉的机化和消失[15]. 目前聚桂醇已广泛用于食管静脉曲张、下肢静脉曲张及血管瘤的硬化治疗, 但聚桂醇通过BRTO治疗胃底静脉曲张的治疗目前国内外未见报道.

对本组具有胃肾静脉分流的23例IGV患者, 我们应用聚桂醇, 经BRTO进行了硬化治疗, 21例插管及治疗成功, 2例操作失败, 分析其原因为胃肾分流静脉与左肾静脉形成的夹角过小, 球囊导管跟进困难所造成. 21例患者治疗后随访发现, 聚桂醇对IGV的治疗效果具有时间依赖性, 治疗后3 mo曲张静脉的消失率达到高值, 这可能与静脉内膜发生纤维化、机化的时间相关. BRTO术中3例发生了窦性心动过缓及血压下降, 手术结束解除球囊压迫后好转, 考虑为术中迷走神经张力增高所致, 术后3例发生了低热及WBC轻度升高, 经一般抗感染治疗后好转. 所有患者未见明显的腹水加重及肝肾功能恶化等严重不良反应.

IGV是门脉高压症所引起的一种相对少见的静脉曲张, 患者门静脉与腔静脉之间常具有特殊的静脉分流, 其中以胃肾分流最为多见. 对于存在胃肾分流的IGV出血患者, 应用硬化剂聚桂醇通过BRTO进行治疗, 疗效肯定, 安全性高, 值得临床推广.

■应用要点

IGV是门脉高压症所引起的一种特殊类型的静脉曲张, 对于存在胃肾分流的IGV出血患者, 可应用硬化剂聚桂醇通过BRTO进行治疗, 其疗效确切.

4 参考文献

1 Ryan BM, Stockbrugger RW, Ryan JM. A pathophysiologic, gastroenterologic, and radiologic approach to the management of gastric varices. *Gastroenterology* 2004; 126: 1175-1189 [PMID: 15057756 DOI: 10.1053/j.gastro.2004.01.058]

2 Tripathi D, Ferguson JW, Therapondos G, Plevris JN, Hayes PC. Review article: recent advances in the management of bleeding gastric varices. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 24: 1-17 [PMID: 16803599 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2006.02965.x]

3 Chikamori F, Kuniyoshi N, Shibuya S, Takase Y. Correlation between endoscopic and angiographic findings in patients with esophageal and isolated gastric varices. *Dig Surg* 2001; 18: 176-181 [PMID: 11464006 DOI: 10.1159/000050126]

4 Kameda N, Higuchi K, Shiba M, Kadouchi K, Machida H, Okazaki H, Tanigawa T, Watanabe T, Tominaga K, Fujiwara Y, Nakamura K, Arakawa T. Management of gastric fundal varices without gastro-renal shunt in 15 patients. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 448-453 [PMID: 18200669 DOI: 10.3748/wjg.14.448]

5 Wang J, Tian XG, Li Y, Zhang CQ, Liu FL, Cui Y, Liu JY. Comparison of modified percutaneous transhepatic variceal embolization and endoscopic cyanoacrylate injection for gastric variceal rebleeding. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 706-714 [PMID: 23430149 DOI: 10.3748/wjg.v19.i5.706]

6 Kanagawa H, Mima S, Kouyama H, Mizuo H, Iziri M, Tanabe T, Itou Y, Sekiya T. [A successfully treated case of fundic varices by retrograde transvenous obliteration with balloon]. *Nihon Shokakibyo Gakkai Zasshi* 1991; 88: 1459-1462 [PMID: 1920903]

7 Saad WE, Sabri SS. Balloon-occluded Retrograde Transvenous Obliteration (BRTO): Technical Results and Outcomes. *Semin Intervent Radiol* 2011; 28: 333-338 [PMID: 22942551 DOI: 10.1055/s-0031-1284460]

8 Sonomura T, Ono W, Sato M, Sahara S, Nakata K, Sanda H, Kawai N, Minamiguchi H, Nakai M, Kishi K. Three benefits of microcatheters for retrograde transvenous obliteration of gastric varices. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 1373-1378 [PMID: 22493551 DOI: 10.3748/wjg.v18.i12.1373]

9 Takaji R, Kiyosue H, Matsumoto S, Okahara M, Ta-

■同行评价
BRTO治疗IGV是一种安全有效的手段, 这种技术国内应用报道较少, 具有临床实用价值, 值得推广.

noue S, Kondo Y, Mori H. Partial thrombosis of gastric varices after balloon-occluded retrograde transvenous obliteration: CT findings and endoscopic correlation. *AJR Am J Roentgenol* 2011; 196: 686-691 [PMID: 21343514 DOI: 10.2214/AJR.09.3681]
10 Ninoi T, Nishida N, Kaminou T, Sakai Y, Kitayama T, Hamuro M, Yamada R, Nakamura K, Arakawa T, Inoue Y. Balloon-occluded retrograde transvenous obliteration of gastric varices with gastrorenal shunt: long-term follow-up in 78 patients. *AJR Am J Roentgenol* 2005; 184: 1340-1346 [PMID: 15788621 DOI: 10.2214/ajr.184.4.01841340]
11 Sabri SS, Saad WE. Balloon-occluded Retrograde Transvenous Obliteration (BRTO): Technique and Intraprocedural Imaging. *Semin Intervent Radiol* 2011; 28: 303-313 [PMID: 22942548 DOI: 10.1055/s-0031-1284457]
12 程留芳, 令狐恩强, 王志强, 史晓琳. 孤立性胃底静脉曲张病因分析与治疗方法. 中华消化杂志 2000; 20: 42-44
13 曹振远, 冷久成, 赵锦龙, 刘增尧. 经胃肾分流道介入栓塞治疗胃底静脉曲张. 中国急救医学 2005; 25: 693
14 佟小强, 蒋学祥, 邹英华, 朝户干雄. BRTO对食管胃底静脉瘤的栓塞硬化治疗. 实用放射学杂志 2002; 18: 289-492
15 罗红彬, 胡中伟, 郭家伟. 胃底静脉曲张破裂出血急诊内镜下治疗97例. 世界华人消化杂志 2009; 17: 508-511

编辑 田滢 电编 鲁亚静

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

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775

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

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2013年5月28日; 21(15): 1417-1420
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

肠内及肠外营养在根治性远端胃大部切除术后胃瘫治疗中的作用

王 月, 龙 锦

王月, 龙锦, 中国医科大学附属第一医院临床营养科 辽宁省 沈阳市 110001
王月, 硕士, 主要从事临床营养的研究.
作者贡献分布: 本文由王月与龙锦共同完成; 龙锦负责审校.
通讯作者: 龙锦, 副教授, 副主任医师, 110001, 辽宁省沈阳市和平区南京北街155号, 中国医科大学附属第一医院胰腺外科. pancreass@163.com
收稿日期: 2013-02-19 修回日期: 2013-03-25
接受日期: 2013-05-03 在线出版日期: 2013-05-28

Effect of enteral nutrition *vs* parenteral nutrition in management of gastroparesis after radical subtotal gastrectomy

Yue Wang, Jin Long

Yue Wang, Jin Long, Department of Clinical Nutrition, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China
Correspondence to: Jin Long, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Clinical Nutrition, the First Hospital of China Medical University, 155 Nanjing North Road, Heping District, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. pancreass@163.com
Received: 2013-02-19 Revised: 2013-03-25
Accepted: 2013-05-03 Published online: 2013-05-28

Abstract

AIM: To compare the effect of enteral nutrition (EN) and parenteral nutrition (PN) in management of gastroparesis after radical subtotal gastrectomy to find out the proper way for the therapy of gastroparesis.

METHODS: Fifty-two patients with gastroparesis after radical subtotal gastrectomy were divided into an EN group (n = 36) and a PN group (n = 16), which received EN and PN, respectively. The differences in the time required for recovery of gastric emptying and the levels of hemoglobin, total protein and albumin after recovery from gastroparesis were compared between the two groups.

RESULTS: The average time required for recovery of gastric emptying was lower in the EN group than in PN group, but there was no significant difference between the two groups (25.3 d *vs* 28.2 d, P > 0. 05). There were no significant differences between the two groups in the levels of hemoglobin, total protein or albumin after recovery from gastroparesis (all P > 0.05). The treatment expense (RMB/d) was significantly lower in the EN group than in the PN group (398.74 ± 47.68 *vs* 512.77 ± 54.31, P < 0.05). After treatment, the levels of hemoglobin, total protein and albumin were significantly raised in the EN group (123.25 ± 15.68 *vs* 117.25 ± 13.28; 70.34 ± 12.85 *vs* 65.13 ± 10.76; 40.65 ± 8.15 *vs* 36.20 ± 9.16, all P < 0.05), and only the levels of hemoglobin and total protein were significantly raised in the PN group (125.14 g/L ± 13.39 g/L *vs* 120.32 g/L ± 14.67 g/L; 67.52 g/L ± 13.09 g/L *vs* 64.23 g/L ± 12.47 g/L, both P < 0.05). The changes in the levels of hemoglobin, total protein and albumin between before and after treatment were more significant in the EN group than in the PN group (all P < 0.05).

CONCLUSION: EN has a positive therapy effect on systemic support, can reduce the occurrence of complications and is therefore a safe and effective nutrition therapy in patients with gastroparesis after radical subtotal gastrectomy.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Gastrectomy; Gastroparesis; Nutrition

Wang Y, Long J. Effect of enteral nutrition *vs* parenteral nutrition in management of gastroparesis after radical subtotal gastrectomy. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(15): 1417-1420 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1417.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i15.1417

摘要

目的: 比较肠内营养(enteral nutrition, EN)与肠外营养(parenteral nutrition, PN)在根治性远端胃大部切除术后胃瘫治疗中的作用, 探究术后

■背景资料
临床营养治疗是近代医学的重大进展之一. 我国在20世纪70年代初将现代营养治疗的方法应用于临床, 80年代后期在临床上推广应用. 尤其在外科患者的治疗中, 营养治疗已成为一种有效的辅助治疗和主要的治疗方法. 对于危重患者, 在积极治疗原发疾病的基础上, 辅以合理的营养治疗不仅可以支持患者的营养状态, 更为重要的是可以为机体提供适当的营养底物, 防止细胞代谢紊乱, 支持组织器官的结构功能, 调控免疫机能, 加速组织修复, 促进患者康复. 营养治疗主要包括肠内营养(enteral nutrition, EN)和肠外营养(parenteral nutrition, PN).

■同行评议者
郭长江, 研究员, 军事医学科学院卫生学环境医学研究所营养研究室

■研发前沿
目前临床研究的热点主要集中于肠外与肠内营养用于不同疾病治疗中的临床疗效比较，早期肠内营养的时间选择，肠内与肠外营养联合等方面.

胃瘫治疗中的适当营养方式.

方法: 52例根治性胃大部切除术后胃瘫患者，按术后营养治疗方式分为EN组(n = 36)和PN组(n = 16)，分别给予EN或PN治疗. 比较两组平均胃排空功能恢复时间和血红蛋白、总蛋白、白蛋白的差异.

结果: EN组平均胃排空功能恢复时间低于PN组，组间比较差异无显著性(25.3 d *vs* 28.2 d，P>0.05). 治愈后EN组血红蛋白、总蛋白、白蛋白水平与PN组比较差异无显著性(均P>0.05). EN组患者营养支持费用明显低于PN组(398.74元/d±47.68元/d *vs* 512.77元/d±54.31元/d，P<0.05). 与治疗前比较，EN组治疗后的血红蛋白、总蛋白、白蛋白均明显升高，差异均有统计学意义(123.25 g/L±15.68 g/L *vs* 117.25 g/L±13.28 g/L; 70.34 g/L±12.85 g/L *vs* 65.13 g/L±10.76 g/L; 40.65 g/L±8.15 g/L *vs* 36.20 g/L±9.16 g/L，均P<0.05); PN组治疗后血红蛋白(125.14 g/L±13.39 g/L *vs* 120.32 g/L±14.67 g/L)和总蛋白变化较大(67.52 g/L±13.09 g/L *vs* 64.23 g/L±12.47 g/L，P<0.05)，而白蛋白仅略升高(P>0.05). 治疗前后EN组血红蛋白、总蛋白及白蛋白的变化幅度均明显高于PN组各项指标，且差异均有统计学意义(P<0.05).

结论: EN对术后胃瘫的全身支持及减少并发症的发生有着积极的治疗作用，是术后胃瘫的营养治疗中的安全有效措施.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 胃切除术; 胃瘫; 营养

核心提示: 肠外营养(parenteral nutrition, PN)能够直接快速的为机体提供所需的营养物质，使患者短期内营养得到一定的补充，维持了机体的营养均衡，从而提高了机体抵抗疾病的能力. PN在提高和维持血浆蛋白质水平，提高营养状态，迅速纠正负氮平衡起着重要的作用. PN用于术后胃瘫，可使胃肠道得到较好的休息，对恢复胃壁功能有明显的作用，但PN可抑制胃肠动力及胆囊收缩，损害肠黏膜屏障，造成肠内细菌及毒素的移位，导致感染性并发症增加. 肠内营养(enteral nutrition)不仅可以满足机体对营养的需求，更重要的是维持了肠黏膜组织结构的完整性，有助于保护肠黏膜屏障，促进肠功能恢复.

王月，龙锦. 肠内及肠外营养在根治性远端胃大部切除术后胃瘫治疗中的作用. 世界华人消化杂志 2013; 21(15): 1417-1420
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1417.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i15.1417

0 引言

胃瘫(gastroparesis)是以无机械性梗阻的胃排空延迟为特征的慢性疾病. 糖尿病、外科手术是胃瘫的主要病因[1]. 术后胃瘫(postsurgical gastroparesis)多见于上腹部手术后，特别是胃和胰腺手术，主要表现为恶心、呕吐、腹胀等. 术后胃瘫除有上腹症状外，还可导致营养障碍而需要肠内营养(enteral nutrition, EN)或肠外营养(parenteral nutrition, PN)治疗. 本文回顾分析2001-01/2010-01在中国医科大学附属第一医院就诊的根治性远端胃大部切除术后胃瘫患者52例临床病历资料，按术后营养治疗方式的不同分为EN组和PN组，比较不同营养治疗方式在术后胃瘫治疗中的作用，探究术后胃瘫治疗中的适当营养方式.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2001-01/2010-01在中国医科大学附属第一医院就诊的根治性远端胃大部切除术后胃瘫患者52例临床病历资料，其中，男37例，女15例，男：女为2.47：1. 年龄43-75岁，平均年龄61.9岁. 胃瘫发生于术后3-7 d，其中17例在术后6-7 d，流食改为半流食时出现腹胀、呕吐；35例在术后3-4 d，即开始出现胃引流量增加. 所有患者均经口服76%泛影葡胺行胃造影检查，证实胃蠕动较弱或无蠕动，胃内造影剂残留明显，吻合口无梗阻，胃排空延缓. 所有患者均给予持续胃肠减压直至胃动力恢复.

1.2 方法

1.2.1 治疗方法: 患者均符合术后胃瘫诊断标准患者52例[2]. 患者按术后营养方式不同分为以下2组. EN组(36例): 男26例，女10例；年龄平均62.1岁；毕Ⅰ式吻合16例，毕Ⅱ吻合10例. PN组(16例): 男11例，女5例；年龄平均61.5岁；毕Ⅰ式吻合7例，毕Ⅱ式吻合9例. 2组患者间性别、年龄、吻合方式比较差异无显著性. 两组患者均给予禁食水、持续胃肠减压、补液及维持水电解质平衡等一般治疗措施. (1)EN组：一般治疗基础上给予EN治疗. 术中放置鼻肠营养管，术后第2天起经鼻肠管滴注10%葡萄糖溶液或生理盐水500-1000 mL，以后每日滴注肠内营养乳剂，其中瑞能5例、瑞素27例、瑞代4例. 第1天的速度约为20 mL/h，以后逐日增加速度和剂量，最大滴速100 mL/h. 平均3-5 d每日剂量达到约120 kJ/kg后，能量全部由EN替代. 诊断术后胃瘫后继续应用EN治疗；(2)PN组：一般治疗基础上给予静脉

表 1 2组患者治疗前后营养状况比较 (g/L)

		血红蛋白	总蛋白	白蛋白
治疗前	EN组	117.25±13.28	65.13±10.76	36.20±9.16
	PN组	120.32±14.67	64.23±12.47	37.45±7.72
治疗后	EN组	123.25±15.68	70.34±12.85	40.65±8.15
	PN组	125.14±13.39	67.52±13.09	38.31±6.74

EN组: 肠内营养; PN: 肠外营养.

■创新盘点
从术后胃排空功能恢复时间、营养指标、并发症、医疗费用等方面, 综合比较EN与PN在根治性远端胃大部切除术后胃瘫治疗中的作用, 探究术后胃瘫治疗中的适当营养方式.

营养治疗. 营养液为在无菌条件下自行配置(主要有氨基酸、脂肪乳、葡萄糖、维生素和微量元素等). 热量根据Harris-Benedict公式计算或根据患者静息能量消耗确定. 每日热量105-125 kJ/kg, 蛋白质1.0-1.5 g/kg, 糖脂能量比为1∶1, 热氮比为100-150∶1. 经中心静脉于12-16 h输入. 诊断术后胃瘫后继续应用PN治疗.

52例患者中25例诊断术后胃瘫后应用促进胃肠动力的药物(EN组16例, PN组9例). 其中21例应用胃复安20 mg/d, 静脉滴注, 连续3 d; 6例应用红霉素500 mg/d, 静脉滴注, 连续3 d. 其中2例为应用胃复安无效后再给予红霉素, 4例为直接应用红霉素.

EN组6例患者发生鼻肠营养管堵塞, 2例经胃镜, 4例经X线胃肠透视引导下重置鼻肠营养管后, 继续EN治疗, 直至胃排空功能恢复. PN组4例患者因胃瘫症状持续, 为除外梗阻存在, 于术后4 wk左右行胃镜检查证实胃肠吻合口无机械性梗阻, 胃镜能通过吻合口.

1.2.2 观察指标: 观察治疗期间患者胃排空功能恢复时间和并发症的发生情况. 比较两组治疗后血红蛋白、总蛋白、白蛋白水平的差异.

统计学处理 应用SPSS11.0软件. 试验数据以mean±SD表示, 组间比较采用t检验, 组内比较采用配对t检验, 计数资料比较采用χ^2检验, P<0.05为差异具有显著性.

2 结果

2.1 临床疗效 52例患者均经非手术治疗治愈, 胃排空功能恢复时间为术后20-62 d, 平均26.2 d. EN组胃排空功能恢复时间为25.3 d, 短于PN组(28.2 d), 但组间比较差异无显著性(P>0.05). EN组患者营养支持费用为398.74元/d±47.68元/d, 明显低于PN组的512.77元/d±54.31元/d(P<0.05). 与治疗前比较, EN组治疗后的血红蛋白、总蛋白、白蛋白均明显升高, 差异均有统计学意义(P<0.05); PN组治疗后血红蛋白和总蛋白变化较大(P<0.05), 而白蛋白仅略升高(P>0.05). 治疗前及治疗后, 2组患者间的血红蛋白、总蛋白、白蛋白水平比较差异均无显著性(P>0.05). 在治疗前后各营养指标变化上, EN组血红蛋白、总蛋白及白蛋白的变化幅度均明显高于PN组各项指标, 且差异均有统计学意义(P<0.05)(表1).

2.2 并发症 PN组患者3例治疗期间突发寒战、高热, 拔除静脉穿刺导管后, 抗炎治疗迅速好转, 临床诊断为导管性脓毒症. EN组5例治疗期间出现腹胀、腹泻, 经调整输注速度、加用止泻药后得以缓解. EN组并发症的发生率(13.89%)略低于PN组(18.75%), 但组间比较差异无统计学意义(P>0.05).

3 讨论

各种原因的胃瘫均可导致营养障碍. 胃瘫治疗是最具挑战性医学领域之一. 胃瘫治疗的目标是减轻症状, 纠正营养障碍, 恢复经口进食. 胃瘫治疗的基本原则是: 去除病因; 禁食, 胃肠减压; 纠正水、电解质紊乱、营养障碍. 促进胃肠动力药物, 如胃复安、红霉素被用于胃瘫的治疗, 但效果不佳. 部分患者对内镜注射肉毒杆菌内毒素有效[1]. 胃电刺激似乎充满前景, 但远未令人满意[3,4]. 根治性远端胃大部切除术后胃瘫的病因是多因素的, 故单独应用促进胃肠动力药物并不能获得满意的疗效[5].

由于长期禁食、胃肠减压、大量消化液丢失, 加上手术对机体的创伤, 根治性远端胃大部切除术后胃瘫营养治疗尤为重要[6]. 胃癌营养支持治疗的主要目标为[7,8]: 改善患者营养状况; 改善患者生活质量; 提高疗效、减少不良反应; 改善患者预后. 营养治疗包括PN和EN. PN能够直接快速的为机体提供所需的营养物质, 使患者短期内营养得到一定的补充, 维持了机体的营

■应用要点
比较分析EN和PN在根治性远端胃大部切除术后胃瘫治疗中的优缺点, 以期对临床胃大部切除术后胃瘫治疗时营养治疗方式选择提供参考.

■名词解释
胃排空功能: 食物由胃排入十二指肠的过程称为胃排空, 是代表患者胃肠动力改变的重要指标.

养均衡, 从而提高了机体抵抗疾病的能力[9]. PN在提高和维持血浆蛋白质水平, 提高营养状态, 迅速纠正负氮平衡起着重要的作用. PN用于术后胃瘫, 可使胃肠道得到较好的休息, 对恢复胃壁功能有明显的作用, 但PN可抑制胃肠动力及胆囊收缩, 损害肠黏膜屏障, 造成肠内细菌及毒素的移位, 导致感染性并发症增加[10,11]. 因为术后胃瘫患者小肠和结直肠的功能不受影响, 所以可通过鼻肠营养管进行EN. EN不仅可以满足机体对营养的需求, 更重要的是维持了肠黏膜组织结构的完整性, 有助于保护肠黏膜屏障, 促进肠功能恢复[12,13].

与以往的报道的EN治疗胃瘫恢复时间明显早于PN不同[14], 本研究资料显示, EN组胃排空恢复时间低于PN组, 虽然组间比较差异无显著性, 但可反映出EN可缩短患者的病程. 在患者营养状况方面, 在治疗前及治疗后, 2组患者间的血红蛋白、总蛋白、白蛋白水平比较差异均无显著性(P>0.05), 说明PN和EN均为有效治疗措施, 而在治疗前后各营养指标变化上, EN组血红蛋白、总蛋白及白蛋白的变化幅度均明显高于PN组各项指标, 说明EN组对患者营养状况的改善更为明显. 在并发症方面, 虽然两组组患者间并发症发生率差异无统计学意义, 但EN组患者仅发生腹胀、腹泻, 并无严重并发症发生. 这提示胃癌患者术后EN有助于降低机体对手术创伤的应激反应, 究其原因可能与EN支持可有效地维持肠黏膜的屏障功能, 减少内毒素和肠道细菌易位, 降低术后肠源性的应激反应有关. 故EN较PN更有助于降低患者机体的术后应激反应, 增强机体的免疫作用. 此外, EN组治疗费用明显低于PN组, 提示肠内营养是比较符合快速康复外科观点, 有助于患者的康复[15]. 综上所述, EN对于术后胃瘫的全身支持及减少并发症的发生有着积极的作用, 可缩短患者病程, 且费用相对较低, 可做为营养补充的首选.

■同行评价
本文对促进临床营养工作的开展有一定意义, 有一定实际应用价值.

4 参考文献

1 Gumaste V, Baum J. Treatment of gastroparesis: an update. *Digestion* 2008; 78: 173-179 [PMID: 19092243 DOI: 10.1159/000185690]
2 秦新裕. 术后胃瘫的诊断和治疗. 中华消化杂志 2005; 25: 441-442
3 O'Grady G, Egbuji JU, Du P, Cheng LK, Pullan AJ, Windsor JA. High-frequency gastric electrical stimulation for the treatment of gastroparesis: a meta-analysis. *World J Surg* 2009; 33: 1693-1701 [PMID: 19506941 DOI: 10.1007/s00268-009-0096-1]
4 Bortolotti M. Gastric electrical stimulation for gastroparesis: a goal greatly pursued, but not yet attained. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 273-282 [PMID: 21253385 DOI: 10.3748/wjg.v17.i3.273]
5 刘凤林, 秦新裕. 根治性胃大部切除术后胃瘫综合征的回顾性研究. 中华胃肠外科杂志 2002; 5: 245-248
6 Rayner CK, Horowitz M. New management approaches for gastroparesis. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2005; 2: 454-462; quiz 493 [PMID: 16224477]
7 Nash CL, Gerdes H. Methods of palliation of esophageal and gastric cancer. *Surg Oncol Clin N Am* 2002; 11: 459-483, xiii [PMID: 12424863]
8 Mineur L, Lacaine F, Ychou M, Bosset JF, Daban A. [Chemoradiotherapy in the adjuvant treatment of gastric adenocarcinomas: real progress?]. *Cancer Radiother* 2002; 6 Suppl 1: 13s-23s [PMID: 12587378]
9 赵敏. 肠外营养对胃癌术后患者营养和免疫功能的影响. 实用临床医药杂志 2012; 16: 17-19
10 顾荣民, 文旭, 韦达, 明学志, 李刚, 陈环球. 术中腹腔灌注化疗及术后营养支持对进展期胃癌术后肠黏膜屏障功能及免疫功能的影响. 中华胃肠外科杂志 2012; 15: 468
11 曹景玉, 吴力群, 郭卫东, 胡三元. 早期肠内营养对肝切除患者术后恢复情况的影响. 中国普通外科杂志 2009; 18: 103-105
12 邓鑫, 赵毅, 崔钊, 王强. 早期肠内营养在全胃切除术后的应用. 中国实用外科杂志 2008; 28: 76
13 黎介寿. 围手术营养支持的需要性. 肠外与肠内营养 2006; 13: 129-131
14 赵占吉, 王国良, 李轩, 吴玉江, 范筱勇, 黄忠明. 肠内营养在腹部手术后胃瘫治疗中的应用. 肠外与肠内营养 2010; 17: 166-167
15 王成, 毛杰, 韩俭, 张有成, 周栋, 王志强, 苏云峰. 快速康复外科对食管癌术后早期肠内营养患者免疫功能的影响. 实用肿瘤杂志 2010; 25: 68-70

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2013年5月28日; 21(15): 1421-1427
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

TS和BRCA1在胃癌组织中的表达及其临床意义

林雅萍, 李厚强, 苏慧君, 钟国栋, 郑圆圆, 刘 伟, 齐兴峰, 余英豪

林雅萍, 李厚强, 苏慧君, 钟国栋, 郑圆圆, 刘伟, 齐兴峰, 余英豪, 中国人民解放军南京军区福州总医院病理科 福建省福州市 350025
林雅萍, 中国人民解放军南京军区福州总医院病理科实习生.
福建省大学生创新创业训练计划基金资助项目, No. C12023
作者贡献分布: 此课题由余英豪、刘伟、李厚强、林雅萍及苏慧君共同设计; 技术操作由林雅萍、李厚强、苏慧君、钟国栋、郑圆圆及齐兴峰共同完成; 数据分析由林雅萍、李厚强及苏慧君完成; 本论文写作由李厚强、林雅萍、苏慧君及余英豪完成.
通讯作者: 余英豪, 教授, 主任医师, 350025, 福建省福州市西二环路156号, 中国人民解放军南京军区福州总医院病理科.
yuyinghao0808@126.com
电话: 0591-83717703
收稿日期: 2013-03-05 修回日期: 2013-04-13
接受日期: 2013-04-27 在线出版日期: 2013-05-28

Clinical significance of TS and BRCA1 protein overexpression in gastric cancer

Ya-Ping Lin, Hou-Qiang Li, Hui-Jun Su, Guo-Dong Zhong, Yuan-Yuan Zheng, Wei Liu, Xing-Feng Qi, Ying-Hao Yu

Ya-Ping Lin, Hou-Qiang Li, Hui-Jun Su, Guo-Dong Zhong, Yuan-Yuan Zheng, Wei Liu, Xing-Feng Qi, Ying-Hao Yu, Department of Pathology, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command of Chinese PLA, Fuzhou 350025, Fujian Province, China
Supported by: the College Student Innovative Research Foundation of Fujian Province, No. C12023
Correspondence to: Ying-Hao Yu, Professor, Chief Physician, Department of Pathology, General Hospital of Military Command of China PLA, 156 Xierhuan Road, Fuzhou 350025, Fujian Province, China. yuyinghao0808@126.com
Received: 2013-03-05 Revised: 2013-04-13
Accepted: 2013-04-27 Published online: 2013-05-28

Abstract

AIM: To investigate the correlation between thymidylate synthase (TS) and breast cancer susceptibility gene-1 (*BRCA1*) expression and clinicopathological characteristics of gastric cancer.

METHODS: Two hundred and forty-six surgical specimens of gastric cancer collected from patients with complete clinical data who were treated at Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command between January 2011 and January 2012 were used in this study. The protein expression of TS and BRCA1 in these specimens was examined by immunohistochemistry. The correlation between TS and BRCA1 protein expression and clinicopathological characteristics of gastric cancer was analyzed.

RESULTS: The rates of TS and BRCA1 overexpression in gastric cancer were 39.02% (96/246) and 55.69% (137/246), respectively. There was no relationship between TS overexpression and sex, age, tumor site, histotype, differentiation, distant metastasis, depth of invasion, TNM stage and lymph node metastasis (all $P > 0.05$). BRCA1 protein overexpression was associated with depth of invasion ($P < 0.01$) and TNM stage ($P < 0.05$), but not with sex, age, tumor site, differentiation, lymph node metastasis or distant metastasis (all $P > 0.05$). The co-expression rate of TS and BRCA1 in gastric cancer was 26.02% (64/246). The overexpression of TS was negatively correlated with that of BRCA1 ($P < 0.01$, $r = 0.2472$).

CONCLUSION: There exists TS and BRCA1 overexpression in gastric cancer. The overexpression of BRCA1was associated with TNM stage and depth of invasion, which implies that BRCA1 overexpression may be related to invasion of gastric cancer. Detection of BRCA1 protein overexpression may be used to assess the malignant biological behavior and prognosis of gastric cancer and help choose chemotherapy drugs.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; Thymidylate synthase; Breast cancer susceptibility gene 1; Multidrug resistance; Immunohistochemistry; Clinicopathological characteristics

Lin YP, Li HQ, Su HJ, Zhong GD, Zheng YY, Liu W, Qi XF, Yu YH. Clinical significance of TS and BRCA1 protein overexpression in gastric cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(15): 1421-1427 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1421.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i15.1421

摘要

目的: 评价胸苷酸合成酶(thymidylate

■背景资料
目前胃癌的治疗仍以手术为主, 化疗为辅, 但总体来说, 化疗有效率仍不满意, 不同患者之间疗效差异较大, 其主要原因是肿瘤细胞具有内在耐药性. 检测胃癌组织中的耐药基因, 筛选敏感的化疗药物以提高疗效, 是临床的迫切需要.

■同行评议者
陈国忠, 主任医师, 广西中医学院第一附属医院消化内科

■研发前沿
本文探讨胸苷酸合成酶(thymidylate synthase, TS)和乳腺癌易感基因1(breast cancer susceptibility gene-1, *BRCA1*)与胃癌的发生发展、浸润转移等临床病理特征及预后的关系, 并以期为TS和BRCA1临床选择化疗药物提供参考.

synthase, TS)和乳腺癌易感基因1(breast cancer susceptibility gene-1, *BRCA1*)过表达与胃癌患者临床病理参数间的相关性及其临床意义.

方法: 收集2011-01/2012-01在中国人民解放军南京军区福州总医院手术切除的临床资料完整的246例胃腺癌标本, 采用Elivision™ plus免疫组织化学染色方法检测胃癌组织中TS和BRCA1的表达. 使用SPSS16.0软件进行χ^2检验分析.

结果: TS和BRCA1在胃癌组织中阳性率分别为39.02%(96/246)、55.69%(137/246); TS蛋白表达与患者性别、年龄、肿瘤部位、TNM分期、分化程度、浸润深度、淋巴结转移、远处转移均无相关性(P>0.05); BRCA1蛋白表达与患者性别、年龄、肿瘤部位、TNM分期、分化程度远处转移无相关性(P>0.05), 而与浸润深度(P<0.01)和TNM分期(P<0.05)相关. 胃癌组织中TS和BRCA1共同表达阳性率为26.02%(64/246), 联合分析显示TS和BRCA1表达呈负相关(P<0.01, Pearson列联系数C = 0.2472).

结论: 胃癌组织中存在TS和BRCA1过表达, BRCA1蛋白表达与TNM分期和浸润深度相关, 提示BRCA1表达和肿瘤侵袭性具有相关性, 可作为评估胃癌生物学行为以及预后的参考指标. BRCA1和TS的表达检测有助于临床化疗药物的选择.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 胃癌; 胸苷酸合成酶; 乳腺癌易感基因1; 多药耐药; 免疫组织化学; 临床病理参数

核心提示: 胃癌组织中存在胸苷酸合成酶(thymidylate synthase)和乳腺癌易感基因1(breast cancer susceptibility gene-1)过表达, 并且两者过表达与肿瘤侵袭性具有相关性, 可作为评估胃癌生物学行为以及预后的参考指标, 并为临床选择化疗药物提供参考.

林雅萍, 李厚强, 苏慧君, 钟国栋, 郑圆圆, 刘伟, 齐兴峰, 余英豪. TS和BRCA1在胃癌组织中的表达及其临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(15): 1421-1427 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1421.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i15.1421

0 引言

胃癌是全球常见的恶性肿瘤之一, 发病率居第4位, 死亡率居第2位, 其中2/3发生在发展中国家, 仅中国就占42%[1]. 目前胃癌的治疗仍以手术为主, 化疗为辅. 大量的临床研究是以5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)类为基础的联合化疗, 包括联合铂类、紫杉类等, 但总体来说, 化疗有效率仍不满意, 不同患者之间疗效差异较大, 其主要原因是肿瘤细胞具有内在耐药性. 胸苷酸合成酶(thymidylate synthase, TS)和乳腺癌易感基因1(breast cancer susceptibility gene-1, *BRCA1*)分别和胃肠道肿瘤化疗基础药物5-FU及顺铂的耐药息息相关, 其检测可为临床选取化疗药物提供重要的依据. 鉴于国内至今没有关于TS和BRCA1在胃癌中联合表达检测的大样本研究报道, 本研究采用免疫组织化学方法检测246例胃腺癌组织中TS和BRCA1蛋白的表达, 探讨其与胃癌的发生发展、浸润转移等临床病理参数的关系, 并以期为临床选取化疗药物提供一定的参考依据.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2011-01/2012-01在中国人民解放军南京军区福州总医院手术切除的临床资料完整的胃腺癌病例246例, 手术标本经100 g/L中性甲醛固定, 石蜡包埋, 3 μm厚连续切片, 分别进行HE和免疫组织化学染色; 所有病例数术前均未行放化疗. 患者中男191例, 女55例, 年龄22-86岁, 平均62.25岁. 胃癌TNM分期采用AJCC标准第七版(2010), 在246例胃腺癌病例中随机抽取50例癌旁(距癌灶距离>5 cm)非肿瘤性胃黏膜作为对照. 免疫组织化学试剂购自福州迈新生物科技开发公司, 一抗TS和BRCA1均为鼠抗人单克隆抗体. 石蜡切片机(LEICA RM2245); 显微镜(OLYMPUS BX51); 电热恒温干燥箱(上海-恒科技有限公司). 所有标记均设阳性对照并用PBS缓冲液代替一抗做阴性对照.

1.2 方法

1.2.1 EliVision™ plus免疫组织化学染色: 石蜡切片脱蜡、水化, PBS冲洗3 min×3 min; EDTA中(pH = 9.0)热修复20 min; 加30 g/L过氧化氢溶液, 室温下孵育10 min, 以阻断内源性过氧化物酶; PBS冲洗3 min×3 min; 加第一抗体, 室温下孵育60 min; PBS冲洗3 min×5 min; 加聚合物增强剂(试剂A), 室温下孵育20 min; PBS冲洗3 min×3 min; 加酶标抗鼠聚合物(试剂B), 室温下孵育30 min; PBS冲洗3 min×3 min; 加新配制的DAB显色液, 显微镜下观察3-10 min, 阳性显色为棕黄色; 自来水冲洗, 苏木素复染, 0.1%盐酸分化, 自

表 1 TS表达与胃癌患者临床病理参数的关系

临床病理参数	*n*	−	+	++	阳性率*n*(%)	*P*值
性别						>0.25
男	191	113	52	26	78(40.84)	
女	55	37	16	2	18(32.73)	
年龄(岁)						>0.10
<60	86	58	18	10	28(32.56)	
≥60	160	92	50	18	68(42.50)	
肿瘤部位						>0.25
胃食管连接部	69	39	24	6	30(43.48)	
胃部	177	111	44	22	66(37.29)	
TNM分期						>0.25
0+Ⅰ+Ⅱ	168	105	49	14	63(37.50)	
Ⅲ+Ⅳ	78	45	19	14	33(42.31)	
分化						>0.50
高-中分化	89	56	23	10	33(37.08)	
低-未分化	157	94	45	18	63(40.13)	
浸润深度						>0.75
Tis	0	0	0	0	0(0)	
T1	20	11	8	1	9(45.00)	
T2	56	37	8	11	19(33.93)	
T3	113	69	35	9	44(38.94)	
T4	57	33	17	7	24(42.11)	
淋巴结转移						>0.50
N0	61	34	19	8	27(44.26)	
N1	122	79	36	7	43(35.25)	
N2	46	28	8	10	18(39.13)	
N3	17	9	5	3	8(47.06)	
远处转移						>0.90
有	10	6	4	0	4(40.00)	
无	236	144	64	28	92(38.98)	

TS: 胸苷酸合成酶.

表 2 BRCA1表达与胃癌患者临床病理参数的关系

临床病理参数	*n*	−	+	++	阳性率*n*(%)	*P*值
性别						>0.90
男	191	85	51	55	106(55.50)	
女	55	24	19	12	31(56.36)	
年龄(岁)						>0.25
<60	86	41	23	22	45(52.33)	
≥60	160	68	47	45	92(57.50)	
肿瘤部位						>0.25
胃食管连接部	71	28	24	19	43(60.56)	
胃部	175	81	46	48	94(53.71)	
TNM分期						<0.05
0+Ⅰ+Ⅱ	168	67	55	46	101(60.12)	
Ⅲ+Ⅳ	78	42	15	21	36(46.15)	
分化						>0.25
高-中分化	89	39	26	24	50(56.18)	
低-未分化	157	70	44	43	87(55.41)	
浸润深度						<0.01
Tis	0	0	0	0	0(0)	
T1	19	4	12	3	15(78.95)	
T2	57	23	11	23	34(59.65)	
T3	115	47	38	30	68(59.13)	
T4	55	35	9	11	20(36.36)	
淋巴结转移						>0.05
N0	60	20	22	18	40(66.67)	
N1	120	59	33	28	61(50.83)	
N2	49	19	11	19	30(61.22)	
N3	17	11	4	2	6(35.29)	
远处转移						>0.25
有	10	6	1	3	4(40.00)	
无	236	103	69	64	133(56.36)	

BRCA1: 乳腺癌易感基因1.

■相关报道
余之刚等研究发现, 胃癌组织中TS表达阳性表达率为48.8%(80/164), 其与肿瘤分化程度、浸润深度、淋巴结转移以及临床病理分期密切相关.

来水冲洗, PBS冲洗返蓝; 梯度乙醇脱水干燥, 中性树脂封片.

1.2.2 TS和BRCA1过表达的判定标准: TS阳性染色呈棕黄色, 位于细胞核和细胞浆; BRCA1阳性染色为棕黄色, 主要位于细胞核, 少量位于胞浆. TS和BRCA1均以肿瘤细胞不着色或<10%的肿瘤细胞着色为阴性(-), ≥10%肿瘤细胞着色为阳性, 并根据肿瘤阳性细胞数所占比例分为: 10%-30%为弱阳性(+), >30%为强阳性(++).

统计学处理 采用SPSS16.0软件进行χ^2检验分析.

2 结果

2.1 TS和BRCA1在胃癌组织中的表达 TS阳性染色呈棕黄色颗粒, 定位于细胞核和胞质(图1). BRCA1阳性染色呈棕黄色颗粒, 定位于细胞核, 少量位于细胞浆(图2). 其表达呈明显的异质性. 癌旁非肿瘤性胃黏膜TS和BRCA1蛋白的表达均为阴性.

2.2 TS和BRCA1表达与胃癌临床病理参数间的关系 246例胃癌组织中TS阳性表达96例, 表达率为39.02%. BRCA1阳性表达137例, 表达率为55.69%. TS蛋白表达与患者性别、年龄、肿瘤部位、TNM分期、分化程度、浸润深度、淋巴结转移、远处转移均无相关性(表1). BRCA1蛋白表达与患者肿瘤TNM分期和浸润深度相关(P<0.05), 而与患者性别、年龄、肿瘤部位、分化程度、淋巴结转移、远处转移无相关性(P>0.05, 表2).

2.3 胃癌中TS和BRCA1表达之间的关系 本研究

■创新盘点

目前国内对胃癌组织中TS和BRCA1研究尚少，本文采用大宗病例研究，综合分析TS和BRCA1在胃癌中的表达情况.

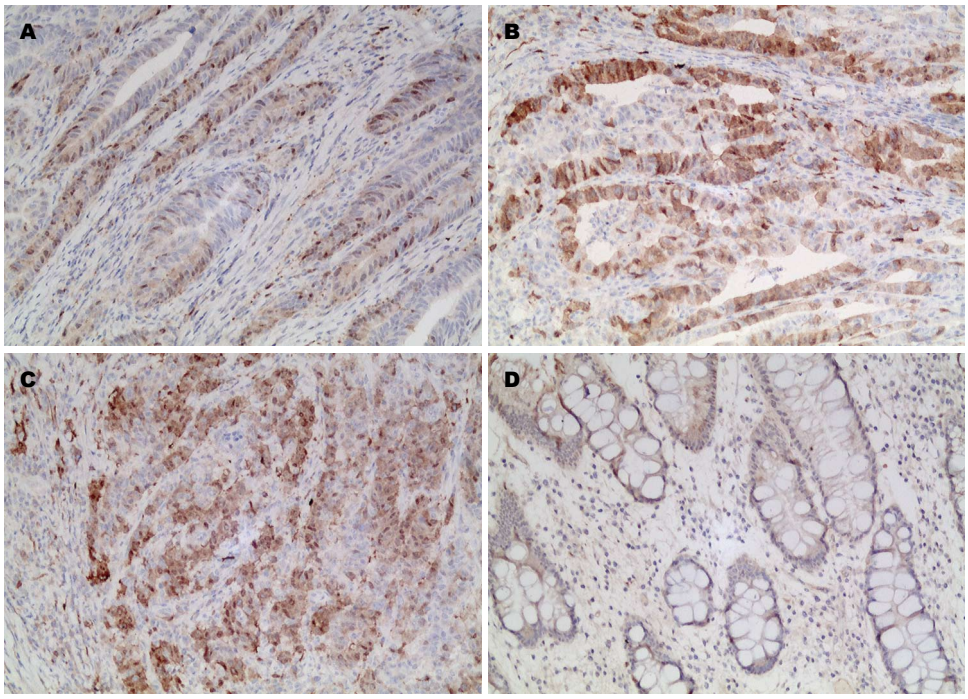


图 1 TS在胃癌中表达(×100). A: 高分化腺癌中TS呈高表达; B: 中分化腺癌中TS呈高表达; C: 低分化腺癌中TS呈高表达; D: 癌旁胃黏膜TS阴性. TS: 胸苷酸合成酶.

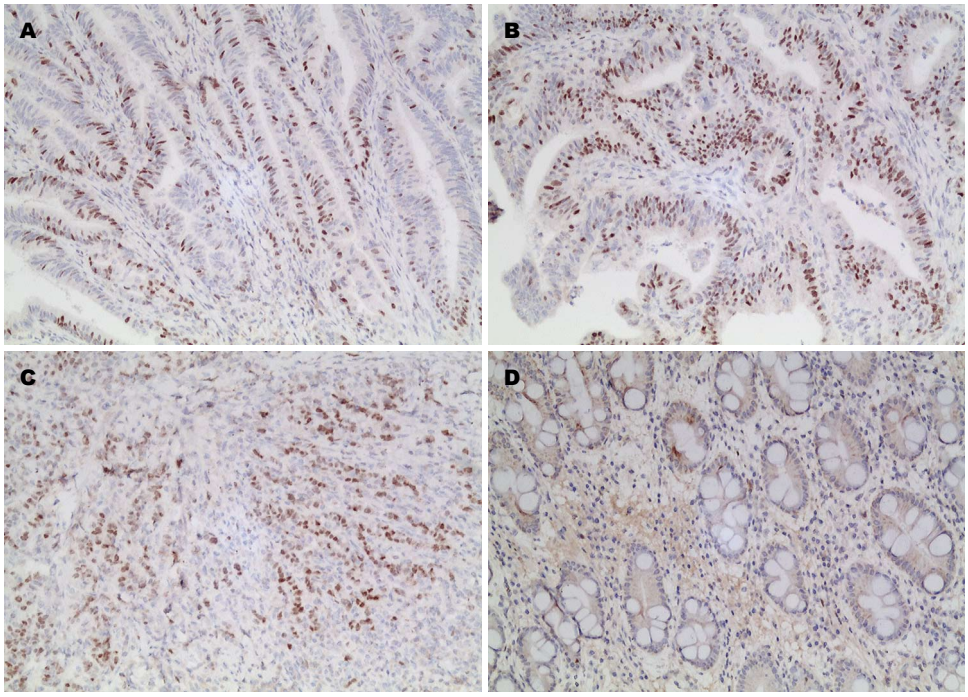


图 2 *BRCA1*在胃癌中表达(×100). A: 高分化腺癌中*BRCA1*呈高表达; B: 中分化腺癌中*BRCA1*呈高表达; C: 低分化腺癌中*BRCA1*呈高表达; D: 癌旁胃黏膜*BRCA1*阴性. *BRCA1*: 乳腺癌易感基因1.

中胃癌组织中TS和BRCA1共同表达阳性率为26.02%(64/246). 将TS和BRCA1蛋白表达进行相关性检验分析发现TS和BRCA1蛋白表达之间存在负相关(P<0.01, Pearson列联系数C = 0.2472, 表3).

3 讨论

TS蛋白是一种分子量为72 kDa的二聚体蛋白质, 为一种叶酸依赖性酶. 其编码基因位于人类染色体18p11.32上, *TS*基因具有多态性, 可造成TS酶活性及功能的多样性, 进而对细胞代谢产生

表 3 TS和BRCA1表达之间的相关性 (*n*)

	TS			
BRCA1	+	–	合计	
+	64	73	137	
–	32	77	109	
合计	96	150	246	$P<0.01$

TS: 胸苷酸合成酶; *BRCA1*: 乳腺癌易感基因1.

不同的影响, 导致肿瘤发生发展表现出明显的个体差异. TS蛋白在DNA合成与修复、细胞增殖与分化中有十分重要的作用, 是肿瘤化疗药5-FU和甲氨蝶呤等的重要靶酶. 5-FU代谢物氟脲嘧啶脱氧核苷酸(FdUMP)能和TS及甲基辅基形成三聚物TS-FdUMP-CH2H4, 阻断dTMP形成, 最终阻止DNA合成. 肿瘤细胞中5-FU等抗代谢药物可与TS蛋白结合, 结合后的复合物不能与TS mRNA作用, 引起细胞内TS mRNA翻译效率提高, 从而导致细胞内TS蛋白量增加. *TS*基因高表达时一方面可加速癌症细胞的增殖, 另一方面可调节细胞的基因表达而影响细胞的生物学行为从而使肿瘤细胞产生抗药性[2,3].

许多学者的研究显示TS的表达水平和肿瘤的临床预后、临床病理参数的相关性具有争议. 余之刚等[4]对164例胃癌标本研究发现, TS表达阳性表达率为48.8%(80/164), 其与肿瘤分化程度、浸润深度、淋巴结转移以及临床病理分期密切相关(P<0.001), 然而不少学者的研究显示二者间没有相关性: 华东等[5]对51例胃癌组织中TS表达的研究显示, TS表达与患者年龄、性别、组织学分级、淋巴结转移及临床分期均无相关性. 当前大部分研究[6-8]显示肿瘤组织中TS的含量可能影响患者预后, TS高水平表达往往预示着较差的预后, 远处转移和复发的风险也更高. 然而也有学者的研究认为TS蛋白水平并不能准确预测肿瘤患者的预后[9-12]. 本组实验中, TS阳性表达率为39.02%, 其表达与胃癌患者的年龄、性别、淋巴结转移、组织学分级以及TNM分期等均无相关性. 这提示TS可能不能作为胃癌预后的参考指标, 但其过表达可为患者选取化疗药物提供一定的参考依据.

由于肿瘤细胞中TS过表达, 导致肿瘤细胞对化疗药物敏感度下降, 化疗有效率不理想. 近年来关于逆转肿瘤细胞多耐药作用的研究引起了人们的关注. Wilson等[13]和Miyahara等[14]分别在培美曲塞, 5-FU等耐药研究中证实了脱氧鸟苷三磷酸酶(dUTPase)抑制剂在逆转TS靶向化疗药物中的作用. 抑制mTOR在逆转肿瘤细胞株耐药性的有效性在胃癌, 非小细胞肺癌[15]等肿瘤中也都得到了证实. Di Cresce等[16]的研究中发现肿瘤细胞内联合转染特异性的TS siRNA和TK1/TK2 siRNA后能逆转肿瘤细胞的耐药性. Nabeya等[17]最新研究认为肿瘤细胞对5-FU化疗敏感性和TS-FdUMP复合物有关, 而和TS蛋白的浓度没有关系, 钙蛋白酶可以降低TS-FdUMP的浓度. 因此, 相关的钙蛋白酶抑制剂将在未来的临床化疗中发挥巨大作用. 上述研究在逆转TS介导的多耐药中, 应用的一些新的逆转思路: dUTPase抑制剂、mTOR抑制剂、钙蛋白酶抑制剂等, 而非一些如siRNA、反义寡核苷酸、酶催化下的激活治疗法等的经典逆转方法. 逆转肿瘤细胞多耐药作用的研究方向将更多, TS的作用将更明确.

肿瘤易感基因*BRCA-1*是重要的肿瘤抑制基因[18], 定位于染色体17q21, 编码一个包含锌指结构由1863个氨基酸残基构成的蛋白质. 大量实验结果表明BRCA1蛋白有抑制肿瘤生长的作用, BRCA1蛋白不仅参与细胞周期调控、DNA损伤修复、基因转录及细胞凋亡等多种重要细胞活动, 而且在维持基因组稳定性中起重要作用[19-22]. 当*BRCA1*基因发生基因突变使其蛋白质表达结构异常或表达水平下降, 或者由于其他原因导致BRCA-1蛋白表达减少时, 其抑制功能消失或减弱, 从而导致细胞恶变或肿瘤的发生[23]. 本研究表明BRCA1在胃癌组织中阳性率为55.69%(37/246), BRCA1蛋白表达与患者性别、年龄、肿瘤部位、TNM分期、分化程度远处转移无相关性, 而与浸润深度(P<0.01)和TNM分期(P<0.05)相关. 陈永宏等[24]通过检测61例胃癌组织与正常组织中BRCA1的表达, 发现胃癌组织中BRCA1蛋白表达率比正常组织表达率显著降低. 这提示BRCA1在肿瘤中的表达可能肿瘤的侵袭性及患者的预后相关. 有研究表明[25,26]*BRCA1*甲基化与胃癌形成有关, 此外, Chen等[27]研究显示*BRCA1*基因微卫星不稳定性(microsatellite instability, MSI)与杂合性缺失(loss of heterozygosity, LOH)与胃癌的TNM分期有密切相关, *BRCA1*基因LOH在胃癌TNM Ⅰ-Ⅱ期病例中的阳性率低于TNM Ⅲ-Ⅳ期病例, 而*BRCA1*基因MSI在胃癌TNM Ⅰ-Ⅱ病例中的阳

■应用要点
本文采用免疫组织化学的方法检测TS和BRCA1蛋白在胃癌组织中的表达, 探讨TS和BRCA1与胃癌临床病理参数及预后的相关性.

■同行评价
本文以免疫组织化学研究胃癌组织中存在TS和BRCA1的过表达, 探讨其与胃癌患者临床病理参数间的相关性, 并从肿瘤靶基因多药耐药角度探讨其临床意义, 有较好的科学意义, 研究数据充分, 统计学方法准确, 图片质量较高, 具有一定指导意义.

性率远高于TNM Ⅲ-Ⅳ期病例, 但两者与淋巴结转移、组织学类型或肿瘤分化没有明显关系. Hu等[28]的研究发现, 正常胃黏膜的BRCA1蛋白主要在细胞核内表达, 而癌前病变和胃癌的病例在细胞浆内BRCA1蛋白的表达明显. 这种癌前病变和胃癌中BRCA1的异位表达和其他端粒蛋白TIN2、TRF1、TRF2、TERT、Ku70的过表达共同作用, 缩短了端粒长度, 可能有利于胃癌的多阶段癌变.

铂类药物(顺铂和草酸铂)是目前胃癌化疗常用的药物之一. 铂类药物进入肿瘤细胞后与DNA结合, 形成Pt-DNA复合物, 导致DNA的链间或链内交链, 引起DNA复制障碍, 从而抑制肿瘤细胞分裂. 而BRCA1可通过多种复合物参与DNA修复, 从而影响顺铂的耐药性. Shim等[29]研究发现, 在200例应用紫杉烷和顺铂治疗的患者中, *BRCA1* TT纯合子突变能显著延长患者总体的生存率和存活期, 而*BRCA1* TT这个基因型可能适度成为进展期胃癌的预后标志.

将本研究中TS蛋白和BRCA1蛋白表达进行相关性检验分析发现, TS蛋白的表达和BRCA1蛋白表达呈相关性(P<0.01, Pearson列联系数C = 0.2472), 关于TS蛋白和BRCA1蛋白表达的相关性研究尚未见相关文献报道, 其具体机制有待进一步阐明.

总之, 胃癌是全球高发的肿瘤之一, 胃癌的药物治疗及手术预后的预测成为目前刻不容缓的任务. 虽然本实验中TS与各项病理参数间都无相关性, 并且大量研究表明TS蛋白表达水平目前还不能预测胃癌治疗的预后状况, 但是肿瘤细胞中TS过表达将会导致肿瘤细胞对化疗药物敏感度下降, 化疗有效率不理想. 所以逆转TS介导的多耐药作用可能会是将来关于TS研究的热点. 本实验中BRCA1与胃癌浸润深度(P<0.01)和TNM分期(P<0.05)相关, 通过检测BRCA1的表达情况可用于指导胃癌的个体化治疗以及生存期的预测. 明确BRCA1的致癌机制以适应肿瘤治疗的需要, 将成为今后值得进一步深入研究的问题.

4 参考文献

1 Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108 [PMID: 15761078 DOI: 10.3322/canjclin.55.2.74]
2 Kuniyasu T, Nakamura T, Tabuchi Y, Kuroda Y. Immunohistochemical evaluation of thymidylate synthase in gastric carcinoma using a new polyclonal antibody: the clinical role of thymidylate synthase as a prognostic indicator and its therapeutic usefulness. *Cancer* 1998; 83: 1300-1306 [PMID: 9762929]
3 Lee KH, Hur HS, Im SA, Lee J, Kim HP, Yoon YK, Han SW, Song SH, Oh DY, Kim TY, Bang YJ. RAD001 shows activity against gastric cancer cells and overcomes 5-FU resistance by downregulating thymidylate synthase. *Cancer Lett* 2010; 299: 22-28 [PMID: 20727673 DOI: 10.1016/j.canlet.2010.07.020]
4 余之刚, 张强, 贾红英, 王建新. 胸苷酸合成酶的表达及其与胃癌的相关性研究. 中华胃肠外科杂志 2003; 6: 259-262
5 华东, 黄朝晖, 邓建忠, 茆勇. 胃癌组织中胸苷酸合成酶、胸苷磷酸化酶mRNA表达及其临床意义. 中国癌症杂志 2007; 17: 766-769
6 Hu HB, Kuang L, Zeng XM, Li B, Liu EY, Zhong MZ. Predictive value of thymidylate synthase expression in gastric cancer: a systematic review with meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 261-267 [PMID: 22502681 DOI: 10.7314/APJCP.2012.13.1.261]
7 Tanaka K, Saigusa S, Toiyama Y, Koike Y, Okugawa Y, Yokoe T, Inoue Y, Kobayashi M, Miki C, Kusunoki M. TS and DPD mRNA levels on formalin-fixed paraffin-embedded specimens as predictors for distant recurrence of rectal cancer treated with preoperative chemoradiotherapy. *J Surg Oncol* 2012; 105: 529-534 [PMID: 22006578]
8 Shimokawa H, Uramoto H, Onitsuka T, Iwata T, Nakagawa M, Ono K, Hanagiri T. TS expression predicts postoperative recurrence in adenocarcinoma of the lung. *Lung Cancer* 2011; 72: 360-364 [PMID: 20970877 DOI: 10.1016/j.lungcan.2010]
9 Kwon HC, Roh MS, Oh SY, Kim SH, Kim MC, Kim JS, Kim HJ. Prognostic value of expression of ERCC1, thymidylate synthase, and glutathione S-transferase P1 for 5-fluorouracil/oxaliplatin chemotherapy in advanced gastric cancer. *Ann Oncol* 2007; 18: 504-509 [PMID: 17322540]
10 Jeong SH, Han JH, Kim JH, Ahn MS, Hwang YH, Lee HW, Kang SY, Park JS, Choi JH, Lee KJ, Sheen SS, Lim HY. Bax predicts outcome in gastric cancer patients treated with 5-fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin palliative chemotherapy. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 131-138 [PMID: 20503071 DOI: 10.1007/s10620-010-1280-8]
11 Kim KH, Kwon HC, Oh SY, Kim SH, Lee S, Kwon KA, Jang JS, Kim MC, Kim SJ, Kim HJ. Clinicopathologic significance of ERCC1, thymidylate synthase and glutathione S-transferase P1 expression for advanced gastric cancer patients receiving adjuvant 5-FU and cisplatin chemotherapy. *Biomarkers* 2011; 16: 74-82 [PMID: 21133646 DOI: 10.3109/1354750X.2010.533284]
12 Brücher BL, Keller G, Werner M, Müller U, Lassmann S, Cabras AD, Fend F, Busch R, Stein H, Allescher HD, Molls M, Siewert JR, Höfler H, Specht K. Using Q-RT-PCR to measure cyclin D1, TS, TP, DPD, and Her-2/neu as predictors for response, survival, and recurrence in patients with esophageal squamous cell carcinoma following radiochemotherapy. *Int J Colorectal Dis* 2009; 24: 69-77 [PMID: 18704459]
13 Wilson PM, LaBonte MJ, Lenz HJ, Mack PC, Ladner RD. Inhibition of dUTPase induces synthetic lethality with thymidylate synthase-targeted therapies in non-small cell lung cancer. *Mol Cancer Ther* 2012; 11: 616-628 [PMID: 22172489 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-11-0781]

14 Miyahara S, Miyakoshi H, Yokogawa T, Chong KT, Taguchi J, Muto T, Endoh K, Yano W, Wakasa T, Ueno H, Takao Y, Fujioka A, Hashimoto A, Itou K, Yamamura K, Nomura M, Nagasawa H, Shuto S, Fukuoka M. Discovery of a novel class of potent human deoxyuridine triphosphatase inhibitors remarkably enhancing the antitumor activity of thymidylate synthase inhibitors. *J Med Chem* 2012; 55: 2970-2980 [PMID: 22339362 DOI: 10.1021/jm201628y]
15 Markova B, Hähnel PS, Kasper S, Herbertz S, Schuler M, Breitenbuecher F. Pharmacologic inhibition of mTOR antagonizes the cytotoxic activity of pemetrexed in non-small cell lung cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2012; 138: 545-554 [PMID: 22203472]
16 Di Cresce C, Figueredo R, Ferguson PJ, Vincent MD, Koropatnick J. Combining small interfering RNAs targeting thymidylate synthase and thymidine kinase 1 or 2 sensitizes human tumor cells to 5-fluorodeoxyuridine and pemetrexed. *J Pharmacol Exp Ther* 2011; 338: 952-963 [PMID: 21673071 DOI: 10.1124/jpet.111.183178]
17 Nabeya Y, Suzuki T, Furuya A, Koide N, Ohkoshi M, Takiguchi M, Ochiai T, Matsubara H, Hiwasa T. Calpain regulates thymidylate synthase-5-fluoro-dUMP complex levels associated with response to 5-fluorouracil in gastric cancer cells. *Cancer Sci* 2011; 102: 1509-1515 [PMID: 21561529 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2011.01978.x]
18 Jhanwar-Uniyal M. BRCA1 in cancer, cell cycle and genomic stability. *Front Biosci* 2003; 8: s1107-s1117 [PMID: 12957814 DOI: 10.2741/1131]
19 Deng CX. BRCA1: cell cycle checkpoint, genetic instability, DNA damage response and cancer evolution. *Nucleic Acids Res* 2006; 34: 1416-1426 [PMID: 16522651 DOI: 10.1093/nar/gkl010]
20 De Siervi A, De Luca P, Byun JS, Di LJ, Fufa T, Haggerty CM, Vazquez E, Moiola C, Longo DL, Gardner K. Transcriptional autoregulation by BRCA1. *Cancer Res* 2010; 70: 532-542 [PMID: 20068145 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-1477]
21 Morris JR, Boutell C, Keppler M, Densham R, Weekes D, Alamshah A, Butler L, Galanty Y, Pangon L, Kiuchi T, Ng T, Solomon E. The SUMO modification pathway is involved in the BRCA1 response to genotoxic stress. *Nature* 2009; 462: 886-890 [PMID: 20016594 DOI: 10.1038/nature08593]
22 Ciechanover A. Intracellular protein degradation: from a vague idea thru the lysosome and the ubiquitin-proteasome system and onto human diseases and drug targeting. *Exp Biol Med* (Maywood) 2006; 231: 1197-1211 [PMID: 16816126]
23 Scully R, Livingston DM. In search of the tumour-suppressor functions of BRCA1 and BRCA2. *Nature* 2000; 408: 429-432 [PMID: 11100717]
24 陈永宏, 陈一民, 廖晓丹. BRCA1在胃癌组织中的表达. 中国医学创新 2010; 7: 61-62
25 Zavala G L, Luengo J V, Ossandón C F, Riquelme S E, Backhouse E C, Palma V M, Argandoña C J, Cumsille MA, Corvalán R A. [Hierarchical clustering analysis to detect associations between clinical and pathological features of gastric tumors and hypermethylation of suppressor genes]. *Rev Med Chil* 2007; 135: 17-25 [PMID: 17369979]
26 Bernal C, Vargas M, Ossandón F, Santibáñez E, Urrutia J, Luengo V, Zavala LF, Backhouse C, Palma M, Argandoña J, Aguayo F, Corvalán A. DNA methylation profile in diffuse type gastric cancer: evidence for hypermethylation of the BRCA1 promoter region in early-onset gastric carcinogenesis. *Biol Res* 2008; 41: 303-315 [PMID: 19399343]
27 Chen XR, Zhang WZ, Lin XQ, Wang JW. Genetic instability of BRCA1 gene at locus D17S855 is related to clinicopathological behaviors of gastric cancer from Chinese population. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 4246-4249 [PMID: 16830385]
28 Hu H, Zhang Y, Zou M, Yang S, Liang XQ. Expression of TRF1, TRF2, TIN2, TERT, KU70, and BRCA1 proteins is associated with telomere shortening and may contribute to multistage carcinogenesis of gastric cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2010; 136: 1407-1414 [PMID: 20127252 DOI: 10.1007/s00432-010-0795-x]
29 Shim HJ, Yun JY, Hwang JE, Bae WK, Cho SH, Lee JH, Kim HN, Shin MH, Kweon SS, Lee JH, Kim HJ, Chung IJ. BRCA1 and XRCC1 polymorphisms associated with survival in advanced gastric cancer treated with taxane and cisplatin. *Cancer Sci* 2010; 101: 1247-1254 [PMID: 20331623 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2010.01514.x]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2013年5月28日; 21(15): 1428-1431
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

TAZ蛋白在胃癌组织中的表达及其临床意义

李远航

■背景资料
分子靶向治疗也是近年研究的热点, 因此筛选有效的靶向分子及其在胃癌中作用机制的研究就变得尤为重要. 已有研究表明TAZ的异常表达在多种肿瘤发生发展起着重要作用.

李远航, 辽宁省肿瘤医院肿瘤内科 辽宁省沈阳市 110001
李远航, 副主任医师, 主要从事各种恶性肿瘤的内科治疗.
作者贡献分布: 本文由李远航独立完成课题设计、实验操作及论文撰写.
通讯作者: 李远航, 副主任医师, 110001, 辽宁省沈阳市大东区小河沿路44号, 辽宁省肿瘤医院肿瘤内科. li_yuanhang@sohu.com
收稿日期: 2013-03-20 修回日期: 2013-04-20
接受日期: 2013-04-27 在线出版日期: 2013-05-28

Clinical significance of expression of TAZ protein in gastric cancer

Yuan-Hang Li

Yuan-Hang Li, Department of Medical Oncology, Liaoning Provincial Cancer Hospital, Shenyang 110001, Liaoning Province, China
Correspondence to: Yuan-Hang Li, Associate Chief Physician, Department of Medical Oncology, Liaoning Provincial Cancer Hospital, 44 Xiaoheyan Road, Dadong District, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. li_yuanhang@sohu.com
Received: 2013-03-20 Revised: 2013-04-20
Accepted: 2013-04-27 Published online: 2013-05-28

Abstract

AIM: To investigate the expression of TAZ and β-catenin in gastric cancer and to analyze their correlation with the clinicopathological features of gastric cancer.

METHODS: Immunohistochemical method was used to detect the expression of TAZ and β-catenin in 129 gastric cancinoma specimens and matched normal colorectal mucosal specimens.

RESULTS: The positive rate of TAZ expression was significantly higher in chronic atrophic gastritis (66.67%), intestinal metaplasia (69.57%), dysplasia (71.88%) and gastric carcinoma (75.19%) than in normal gastric mucosa (20.93%). The positive rates of β-catenin expression was significantly higher in chronic atrophic gastritis (62.96%), intestinal metaplasia (73.91%), dysplasia (65.63%) and gastric carcinoma (65.89%) than in normal gastric mucosa (24.81%). The expression of TAZ was correlated with histological classification ($P < 0.05$), Lauren's classification ($P < 0.01$), lymph node metastasis ($P < 0.01$), invasion depth ($P < 0.01$), and distant metastasis ($P < 0.05$). The expression of β-catenin was correlated with lymph node metastasis ($P < 0.05$), invasion depth ($P < 0.01$), and distant metastasis ($P < 0.05$). The expression of TAZ protein was significantly positively correlated with that of β-catenin protein ($r = 0.246$, $P < 0.01$).

CONCLUSION: Up-regulated expression of TAZ and β-catenin may be synergistically involved in the growth, invasion and metastasis of gastric cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; TAZ/WWTR1; β-catenin

Li YH. Clinical significance of expression of TAZ protein in gastric cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(15): 1428-1431 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1428.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i15.1428

摘要

目的: 观察TAZ蛋白在正常胃黏膜、癌前病变及胃癌组织中的表达, 分析其与胃癌临床病理因素的关系及意义.

方法: 应用免疫组织化学方法检测129例胃癌组织及其配对的正常组织中TAZ和β-catenin蛋白的表达.

结果: TAZ蛋白在慢性萎缩性胃炎(66.67%)、肠上皮化生(69.57%)、异型增生(71.88%)和胃癌组织(75.19%)中表达的阳性率均显著高于正常胃黏膜(20.93%); β-catenin蛋白在慢性萎缩性胃炎(62.96%)、肠上皮化生(73.91%)、异型增生(65.63%)和胃癌组织(65.89%)中表达的阳性率均显著高于正常胃黏膜(24.81%); 胃癌中TAZ蛋白表达上调与管状腺癌分化程度($P<0.05$), Lauren分型($P<0.01$)、浸润深度($P<0.01$)、淋巴结转移($P<0.01$)、远处转移($P<0.05$)相关; β-catenin表达上调与浸润深度($P<0.01$), 淋巴结转移($P<0.05$), 远处转移

■同行评议者
杜群, 副研究员, 广州中医药大学脾胃研究所药理室; 杜雅菊, 教授, 哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科

(P<0.05)相关; TAZ和β-catenin蛋白表达成正相关(r = 0.246, P<0.01).

结论: 胃癌中TAZ和β-catenin可能协同参与胃癌的发生发展及侵袭转移过程.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 胃癌; 具有PDZ结合域的转录共刺激因子; β连环蛋白

核心提示: 本研究中采用免疫组织化学方法检测胃癌组织中TAZ蛋白与β-catenin蛋白的表达, 研究其与临床病理资料的关系意义重大.

李远航. TAZ蛋白在胃癌组织中的表达及其临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(15): 1428-1431 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1428.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i15.1428

0 引言

具有PDZ结合域的转录共刺激因子TAZ/WWTR1 (transcriptional coactivator with PDZ-binding motif/WW-domain containing transcription regulator 1)蛋白作为Hippo通路重要的信号传导效应分子, 其异常表达与肿瘤发生发展密切相关, 研究发现在小细胞肺癌, 乳腺癌、甲状腺癌中, 作为致癌分子参与肿瘤的发生、发展. β-catenin是Wnt信号传导通路的核心分子, 与肿瘤的发生与转移有重要关系. 越来越多的研究发现hippo信号通路与Wnt信号通路, 在肿瘤发生、侵袭及转移过程中协同发挥作用. 本研究中采用免疫组织化学方法检测胃癌组织中TAZ蛋白与β-catenin蛋白的表达, 研究其与临床病理资料的关系及意义.

1 材料和方法

1.1 材料 收集辽宁省肿瘤医院2007-01/2011-06肿瘤外科手术切除的129例胃癌标本及其配对的正常胃黏膜组织129例, 慢性萎缩性胃炎27例, 肠上皮化生23例, 异型增生32例. 其中男92例, 女37例; 年龄30-75岁, 中位年龄55岁. WHO组织病理学分期: 乳头状腺癌7例, 高分化管状腺癌23, 中分化管状腺癌39例, 低分化腺癌37例, 未分化癌5例, 黏液腺癌10例, 印戒细胞癌8例. 兔抗人β-catenin多克隆抗体购自美国BD公司; 通用型二部法免疫组织化学检测试剂盒和DAB显色试剂购自北京中杉金桥公司.

1.2 方法 所有病例构建在3个组织芯片蜡块中, 连续切片备用. 兔抗人TAZ抗体工作浓度1∶200, 兔抗人β-catenin多克隆抗体购自美国BD公司, 工作浓度1∶500. PV9000通用型二部法免疫组织化学检测按照产品说明书进行, PBS代替一抗作为阴性对照. 结果判定: TAZ定位于细胞浆和细胞核, β-catenin蛋白在细胞浆呈现清晰棕黄色特异性免疫反应颗粒为阳性细胞. 随机选择2个高倍镜视野, 计数200个细胞, 阳性细胞占计数同类细胞百分率<10%为0分, 10%-25%为1分, 26%-50%为2分, 51%-75%为3分, >75%为4分. 染色强度以阳性细胞呈色反应为准: 无特异着色为0分, 浅黄色为1分, 棕黄色为2分, 棕褐色为3分; 然后按染色强度和阳性细胞所占的百分比的积分值的乘积将结果分为: 0-4分为阴性(-); 5-12分为阳性(+).

统计学处理 采用χ^2检验及Kendall's tau-b相关分析, 采用SPSS17.0统计学软件进行分析处理. P<0.05视为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 TAZ在正常胃黏膜、慢性萎缩性胃炎、肠上皮化生、异型增生及胃癌中的表达 TAZ蛋白在慢性萎缩性胃炎(66.67%)、肠上皮化生(69.57%)、异型增生(71.88%)和胃癌组织(75.19%)中表达的阳性率均显著高于正常胃黏膜(20.93%)(P<0.05). TAZ的阳性表达率在慢性萎缩性胃炎、肠上皮化生、异型增生及胃癌各组之间差异均未见统计学差异(P>0.05, 表1).

2.2 β-catenin在正常胃黏膜、慢性萎缩性胃炎、肠上皮化生、异型增生及胃癌中的表达 β-catenin蛋白在慢性萎缩性胃炎(62.96%)、肠上皮化生(73.91%)、异型增生(65.63%)和胃癌组织(65.89%)中表达的阳性率均显著高于正常胃黏膜(24.81%)(P<0.05). TAZ的阳性表达率在慢性萎缩性胃炎、肠上皮化生、异型增生及胃癌各组之间差异均未见统计学差异(表2).

2.3 TAZ和β-catenin蛋白表达与胃癌临床病理因素的关系 胃癌中TAZ蛋白表达与WHO组织学分型, Lauren分型、浸润深度、淋巴结转移、远处转移相关, 其中低分化腺癌(86.48%)高于高中分化管状腺癌(56.52%, 64.10), 弥漫性胃癌(88.00%)高于肠型胃癌(60.87%), 透浆膜组(87.50%)高于未透浆膜(59.65%), 淋巴结转移(81.05%)高于未转移(58.82%), 远处转移(84.44%)高于未转移(70.23%); β-catenin与浸润深度、淋巴结转移、远处转移相关, 透浆膜

■相关报道
TAZ在小细胞肺癌, 乳腺癌、甲状腺癌、结肠癌中, 作为致癌分子参与肿瘤的发生、发展. TAZ参与肿瘤细胞上皮间质转化及侵袭转移过程.

■创新盘点
本研究发现TAZ的异常表达与胃癌临床病理因素的关系, 为分子靶向治疗提供了新靶点.

■应用要点
TAZ蛋白可能是潜在的胃癌治疗靶点.

表 1 TAZ在正常胃黏膜、慢性萎缩性胃炎、肠上皮化生、异型增生及胃癌中的表达

分组	*n*	阳性数(*n*)	阳性率(%)
正常胃黏膜	129	27	20.93
慢性萎缩性胃炎	27	18[b]	66.67[b]
肠上皮化生	23	16[b]	69.57[b]
异型增生	32	23[b]	71.88[b]
胃癌	129	97[b]	75.19[b]

[b]*P*<0.01 *vs* 正常胃黏膜组.

表 2 β-catenin在正常胃黏膜、慢性萎缩性胃炎、肠上皮化生、异型增生及胃癌中的表达

分组	*n*	阳性数(*n*)	阳性率(%)
正常胃黏膜	129	32	24.81
慢性萎缩性胃炎	27	17[b]	62.96[b]
肠上皮化生	23	17[b]	73.91[b]
异型增生	32	21[b]	65.63[b]
胃癌	129	85[b]	65.89[b]

[b]*P*<0.01 *vs* 正常胃黏膜组.

表 3 TAZ和β-catenin蛋白表达与胃癌临床病理因素的关系*n* (%)

分组	*n*	TAZ阳性	β-catenin阳性
性别			
女	37	28(75.68)	24(64.86)
男	92	71(77.17)	61(66.30)
年龄(岁)			
≤55	65	48(73.85)	41(63.08)
>55	64	49(76.56)	44(68.75)
WHO's 组织学分型			
乳头状腺癌	7	4(57.14)	4(57.14)
高分化管状腺癌	23	13(56.52)	12(52.17)
中分化管状腺癌	39	25(64.10)	26(66.67)
低分化腺癌	37	32(86.48)[a]	27(72.97)
未分化癌	5	5(100)	4(80.00)
黏液腺癌	10	9(90.00)	7(70.00)
印戒细胞癌	8	7(87.50)	5(62.50)
Lauren分型			
肠型胃癌	69	42(60.87)	42(60.87)
弥漫型胃癌	50	44(88.00)[b]	36(72.00)
混合型胃癌	10	9(90.00)	7(70.00)
浸润深度			
未及浆膜	57	34(59.65)	30(52.63)
透浆膜	72	63(87.50)[b]	55(76.39)[b]
淋巴结转移			
无	34	20(58.82)	17(50.00)
有	95	77(81.05)[b]	68(71.58)[a]
远处转移			
无	84	59(70.23)	50(59.52)
有	45	38(84.44)[a]	35(77.78)[a]

[a]*P*<0.05 *vs* 高分化管状腺癌+中分化管状腺癌; [b]*P*<0.01 *vs* 肠型胃癌.

表 4 胃癌组织中TAZ和β-catenin蛋白表达的关系 (*n*)

TAZ表达	β-catenin表达		合计
	阴性	阳性	
阴性	21	11	32
阳性	23	74	97
合计	44	85	129

r = 0.246, P<0.01

组(76.39%)高于未透浆膜(52.63%), 淋巴结转移组(71.58%)高于未转移组(50%), 远处转移组(77.78%)高于未转移组(59.52%), 表3.

2.4 胃癌组织中TAZ和β-catenin蛋白表达相关性分析 在129例胃癌组织中TAZ和β-catenin蛋白表达成正相关(r = 0. 246, P<0.01, 表4).

3 讨论

TAZ蛋白也被称作WWTR-1, 首次被证实为14-3-3结合蛋白, 序列分析与YAP蛋白同源, 是Hippo信号传导通路重要的信号传导分子, 参与器官发育、干细胞分化和肿瘤发展等生物学功能[1,2]. β-catenin是经典Wnt信号通路重要的核效应分子, 参与肿瘤细胞上皮间质转化及侵袭转移过程[3]. 研究[4]发现, 61例乳头状甲状腺癌中TAZ mRNA表达水平明显高于正常组织, 免疫组织化学亦证实TAZ蛋白的表达增加. RAS/RAF/MEK/ERK信号通路增加TAZ的表达, 甲状腺癌细胞中过表达TAZ, 增加其生长优势, 诱导上皮间质转化. 乳腺癌细胞系MCF10A中过表达TAZ改变细胞形态特征, 促进细胞的侵袭转移. 在MCF7和Hs578T细胞中RNA干扰敲出TAZ降低细胞迁移侵袭, 还影响细胞克隆形成能力. 此外, TAZ在20%乳腺癌标本中表达增加[5], 可能是TEADs参与介导TAZ的核转录功能, 促进肿瘤恶性转化[6]. TAZ蛋白在结肠癌细胞系中具有癌基因的功能, 慢病毒siRNA敲出TAZ明显降低其细胞增殖活性和克隆形成能力, 以及移植瘤生长[7,8]. 非小细胞肺癌中TAZ表达率66.8%(121/181), 定位于细胞核和细胞浆. TAZ表达与分化程度, 肿瘤大小, 淋巴结转移, 远处转移相关, 瘤内血管浸润和胸壁浸润相关, 表达降低与总生存率和无病生存期相关. TAZ表达是可切除非小细胞肺癌重要的预后因素[9]. Zhou等[10]及周建宏等[11]

发现*TAZ*是非小细胞肺癌发生中重要的癌基因. Wei等[12]发现TAZ过表达与舌鳞状上皮癌肿瘤大小, 病理学分级及不良预后相关. 我们的实验发现TAZ蛋白在胃癌肿瘤组织中的表达明显升高, 与淋巴结转移, 浸润深度和远处转移临床病理因素相关, 说明TAZ蛋白在胃癌的生长、侵袭转移过程中发挥重要作用.

TAZ的活性和核移位受ZO-1和ZO-2负性调节, 影响肿瘤细胞增殖凋亡、上皮间质转化和迁移[13]. Wnt信号缺失时, APC/Axin/GSK3降解复合体维持TAZ低表达, TAZ的降解依赖于GSK3磷酸化的β-catenin将泛素蛋白连接酶b-TrCP与TAZ结合, 当Wnt信号激活可以稳定TAZ. TAZ的激活参与Wnt信号传导通路, 介导Wnt生物效应[14,15]. 还有研究发现[16]过表达TAZ增加β-catenin的表达, hippo通路激活通过磷酸化Yap及TAZ, 抑制β-catenin稳定性及核转录活性. 本实验中β-catenin表达与淋巴结转移、浸润深度和远处转移临床病理因素相关, 而且β-catenin与TAZ表达成正相关, 两者可能相互协作共同参与胃癌侵袭转移的过程.

4 参考文献

1 Kanai F, Marignani PA, Sarbassova D, Yagi R, Hall RA, Donowitz M, Hisaminato A, Fujiwara T, Ito Y, Cantley LC, Yaffe MB. TAZ: a novel transcriptional co-activator regulated by interactions with 14-3-3 and PDZ domain proteins. *EMBO J* 2000; 19: 6778-6791 [PMID: 11118213 DOI: 10.1093/emboj/19.24.6778]

2 Sudol M, Bork P, Einbond A, Kastury K, Druck T, Negrini M, Huebner K, Lehman D. Characterization of the mammalian YAP (Yes-associated protein) gene and its role in defining a novel protein module, the WW domain. *J Biol Chem* 1995; 270: 14733-14741 [PMID: 7782338 DOI: 10.1074/jbc.270.24.14733]

3 Valenta T, Hausmann G, Basler K. The many faces and functions of β-catenin. *EMBO J* 2012; 31: 2714-2736 [PMID: 22617422 DOI: 10.1038/emboj.2012.150]

4 de Cristofaro T, Di Palma T, Ferraro A, Corrado A, Lucci V, Franco R, Fusco A, Zannini M. TAZ/WWTR1 is overexpressed in papillary thyroid carcinoma. *Eur J Cancer* 2011; 47: 926-933 [PMID: 21131195 DOI: 10.1016/j.ejca.2010.11.008]

5 Chan SW, Lim CJ, Guo K, Ng CP, Lee I, Hunziker W, Zeng Q, Hong W. A role for TAZ in migration, invasion, and tumorigenesis of breast cancer cells. *Cancer Res* 2008; 68: 2592-2598 [PMID: 18413727 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-2696]

6 Chan SW, Lim CJ, Loo LS, Chong YF, Huang C, Hong W. TEADs mediate nuclear retention of TAZ to promote oncogenic transformation. *J Biol Chem* 2009; 284: 14347-14358 [PMID: 19324876 DOI: 10.1074/jbc.M901568200]

7 Pan J, Li S, Chi P, Xu Z, Lu X, Huang Y. Lentivirus-mediated RNA interference targeting WWTR1 in human colorectal cancer cells inhibits cell proliferation in vitro and tumor growth in vivo. *Oncol Rep* 2012; 28: 179-185 [PMID: 22470139 DOI: 10.3892/or.2012.1751]

8 Yuen HF, McCrudden CM, Huang YH, Tham JM, Zhang X, Zeng Q, Zhang SD, Hong W. TAZ expression as a prognostic indicator in colorectal cancer. *PLoS One* 2013; 8: e54211 [PMID: 23372686 DOI: 10.1371/journal.pone.0054211]

9 Xie M, Zhang L, He CS, Hou JH, Lin SX, Hu ZH, Xu F, Zhao HY. Prognostic significance of TAZ expression in resected non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 2012; 7: 799-807 [PMID: 22481233 DOI: 10.1097/JTO.0b013e318248240b]

10 Zhou Z, Hao Y, Liu N, Raptis L, Tsao MS, Yang X. TAZ is a novel oncogene in non-small cell lung cancer. *Oncogene* 2011; 30: 2181-2186 [PMID: 21258416 DOI: 10.1038/onc.2010.606]

11 周建宏, 王平, 朱超男, 沈涛, 陈新隆, 彭俊. TAZ在非小细胞肺癌组织中的表达及其临床意义. 中国癌症杂志 2012; 2: 200-204

12 Wei Z, Wang Y, Li Z, Yuan C, Zhang W, Wang D, Ye J, Jiang H, Wu Y, Cheng J. Overexpression of Hippo pathway effector TAZ in tongue squamous cell carcinoma: correlation with clinicopathological features and patients' prognosis. *J Oral Pathol Med* 2013 Mar 29 *[Epub ahead of print]* [PMID: 23551691 DOI: 10.1111/jop.12062]

13 Remue E, Meerschaert K, Oka T, Boucherie C, Vandekerckhove J, Sudol M, Gettemans J. TAZ interacts with zonula occludens-1 and -2 proteins in a PDZ-1 dependent manner. *FEBS Lett* 2010; 584: 4175-4180 [PMID: 20850437 DOI: 10.1016/j.febslet.2010.09.020]

14 Azzolin L, Zanconato F, Bresolin S, Forcato M, Basso G, Bicciato S, Cordenonsi M, Piccolo S. Role of TAZ as mediator of Wnt signaling. *Cell* 2012; 151: 1443-1456 [PMID: 23245942 DOI: 10.1016/j.cell.2012.11.027]

15 Tsai BP, Hoverter NP, Waterman ML. Blending hippo and WNT: sharing messengers and regulation. *Cell* 2012; 151: 1401-1403 [PMID: 23260132 DOI: 10.1016/j.cell.2012.12.007]

16 Imajo M, Miyatake K, Iimura A, Miyamoto A, Nishida E. A molecular mechanism that links Hippo signalling to the inhibition of Wnt/β-catenin signalling. *EMBO J* 2012; 31: 1109-1122 [PMID: 22234184 DOI: 10.1038/emboj.2011.487]

■同行评价

本文在寻找胃癌治疗的分子标志物研究中具有重要的意义, 具有一定指导价值.

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2013年5月28日; 21(15): 1432-1436
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

恩替卡韦联合苦参素治疗e抗原阳性慢性乙型肝炎的荟萃分析

齐有涛, 左维泽

■背景资料
慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)已经成为我国公共卫生的重大负担, 近年来尽管对于CHB的抗病毒治疗取得很大进展, 特别是随着恩替卡韦这一抗病毒能力强, 耐药率低的抗乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)药物在中国推广使用, 越来越多的乙肝患者病情得到控制, 然而总体来讲, 目前HBV治疗疗效尚不能令人满意. 苦参素是我国研制的抗病毒药物, 多项临床试验证实苦参素具有抑制HBV复制的作用, 然而苦参素联合恩替卡韦是否具有协同作用值得进一步深入研究.

齐有涛, 石河子大学医学院 新疆维吾尔自治区石河子市 832000
左维泽, 石河子大学第一附属医院感染性疾病科 新疆维吾尔自治区石河子市 832000
齐有涛, 在读硕士, 主要从事病毒性肝炎的治疗与临床研究.
作者贡献分布: 课题设计、文献检索及数据收集由齐有涛与左维泽完成; 论文撰写由齐有涛完成; 论文修改由左维泽完成.
通讯作者: 左维泽, 副教授, 硕士研究生导师, 832000, 新疆石河子市北二路32小区, 新疆石河子市石河子大学医学院第一附属医院感染性疾病科. zwz0604@qq.com
收稿日期: 2013-03-08 修回日期: 2013-04-08
接受日期: 2013-04-12 在线出版日期: 2013-05-28

Entecavir plus matrine *vs* entecavir monotherapy for HBeAg-positive chronic hepatitis B: A Meta-analysis

You-Tao Qi, Wei-Ze Zuo

You-Tao Qi, Medical School of Shihezi University, Shihezi 832000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Wei-Ze Zuo, Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Medical School of Shihezi University, Shihezi 832000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Correspondence to: Wei-Ze Zuo, Associate Professor, Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Medical School of Shihezi University, 32 Xiaoqu Beier Road, Shihezi 832000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. zwz0604@qq.com
Received: 2013-03-08 Revised: 2013-04-08
Accepted: 2013-04-12 Published online: 2013-05-28

Abstract

AIM: To compare the efficacy of entecavir-matrine combination therapy versus entecavir monotherapy in the management of HBeAg-positive chronic hepatitis B in China.

METHODS: A computer-based search of relevant randomized controlled trials was performed. The pooled odds ratio and 95% confidence interval (CI) of outcome indicators were used to measure the magnitude of the efficacy. Meta-analysis was carried out using RevMan 5.2 software.

RESULTS: Ten trials including 765 patients were identified. The combination therapy was remarkably more effective than monotherapy at the end of the treatment in terms of rates of HBV-DNA negative conversion (81.3% *vs* 66.5%, OR = 2.49, 95%CI: 1.70-3.66), HBeAg loss (52.3% *vs* 26.5%, OR = 3.27, 95%CI: 2.23-4.80), ALT normalization (88.4% *vs* 68.0%, OR = 3.62, 95%CI: 2.43-5.39) and HBeAg seroconversion (45.3% *vs* 23.2%, OR = 2.98, 95%CI: 2.00-4.44).

CONCLUSION: Entecavir-matrine combination therapy achieves superior efficacy with no increase in adverse effects as compared with entecavir monotherapy in the management of HBeAg-positive hepatitis B.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Hepatitis B; Chronic; Entecavir; Matrine; Meta-analysis

Qi YT, Zuo WZ. Entecavir plus matrine *vs* entecavir monotherapy for HBeAg-positive chronic hepatitis B: A Meta-analysis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(15): 1432-1436 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1432.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i15.1432

摘要

目的: 评价国内恩替卡韦联合苦参素治疗HBeAg阳性慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)的疗效与安全性.

方法: 检索国内2005-2012年公开发表的恩替卡韦联合苦参素与单用恩替卡韦比较治疗HBeAg阳性CHB的随机对照试验, 以比值比(odds ratio, OR)为效应量进行异质性检验和统计量合并分析. 采用Cochrane协作网提供的RevMan 5.2软件进行荟萃分析.

结果: 经筛选共纳入10项随机对照试验, 合计765例患者, 其中治疗组382例, 对照组383例. 荟萃分析结果显示, 在治疗结束时, 治疗组血清HBV-DNA转阴率高于对照组(81.3%

■同行评议者
白浪, 副教授, 四川大学华西医院感染性疾病中心; 杨江华, 副教授, 皖南医学院弋矶山医院感染科

vs 66.5%, OR = 2.49, 95%CI: 1.70-3.66), 血清HBeAg转阴率高于对照组(52.3% *vs* 26.5%, OR = 3.27, 95%CI: 2.23-4.80), 丙氨酸转氨酶复常率高于对照组(88.4% *vs* 68.0%, OR = 3.62, 95%CI: 2.43-5.39), HBeAg血清转换率高于对照组(45.3% *vs* 23.2%, OR = 2.98, 95%CI: 2.00-4.44), 差异均有统计学意义(P<0.01).

结论: 恩替卡韦联合苦参素对HBeAg阳性CHB的抗病毒疗效显著优于恩替卡韦单用, 具有较好的安全性和耐受性.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 乙型肝炎; 慢性; 恩替卡韦; 苦参素; 荟萃分析

核心提示: 恩替卡韦联合苦参素对HBeAg阳性慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B)的抗病毒疗效显著优于恩替卡韦单用, 具有较好的安全性和耐受性.

齐有涛, 左维泽. 恩替卡韦联合苦参素治疗e抗原阳性慢性乙型肝炎的荟萃分析. 世界华人消化杂志 2013; 21(15): 1432-1436
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1432.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i15.1432

0 引言

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染是一个全球性的公共卫生健康问题, 全球约有20亿人曾感染过HBV, 其中3.5亿人为慢性HBV感染者[1,2], 每年约有100万人死于HBV感染所致的肝衰竭、肝硬化和肝细胞癌[2]. 2005年, 恩替卡韦被美国食品和药品管理局批准用于治疗慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB), 因其较好的抗病毒效能和理想的耐药性, 成为各指南中推荐使用的一线口服药物, 但其疗效仍不能令人满意[1-3]. 近来, 我国学者开始尝试恩替卡韦联合苦参素治疗CHB并取得了较好的效果. 本研究就国内恩替卡韦与苦参素联合疗效公开发表的有关文献进行荟萃分析.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2005-2012国内公开发表的恩替卡韦联合苦参素治疗CHB相关论文及会议论文.

1.2 方法

1.2.1 检索策略: 检索范围包括中国期刊全文数据库、万方数字化期刊全文数据库、中国科技期刊数据库(维普)、中国生物医学文献数据库及中国医院知识仓库会议论文全文数据库. 检索词包括: 恩替卡韦、苦参素、CHB、随机对照试验. 限定检索词在篇名、关键词和摘要.

1.2.2 纳入与排除标准: 纳入标准: (1)研究类型: 随机对照试验, 无论是否采用盲法及隐蔽分组; (2)研究对象: HBeAg阳性的CHB患者, 诊断标准符合2000年西安会议制定的《病毒性肝炎防治方案》[4], 病程在6 mo以上; (3)干预措施: 治疗组为恩替卡韦与苦参素联合治疗; 对照组为恩替卡韦单药治疗. 疗程至少24 wk. 排除标准: (1)不符合纳入标准; (2)发表重复的文献或研究; (3)文献数据无法转换或无法获取全文; (4)合并有其他病毒性肝炎、自身免疫性肝炎、药物性肝炎、遗传性肝病等; (5)疑有或确诊为肝硬化、肝细胞癌者; (6)近期曾使用过抗病毒药物、免疫调节剂等中西药物.

1.2.3 疗效判定指标: 血清HBV-DNA转阴率(HBV-DNA水平低于检测值下限300 copies/mL)、血清HBeAg转阴率、丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)复常率和HBeAg血清学转换率.

1.2.4 数据提取和文献质量评价: 由2名评价员采用统一量表(文献质量评价表和文献资料提取表)独立进行, 完成后进行交叉核对, 如有分歧通过讨论解决. 文献质量评价参照Cochrane Handbook 5.1.0[5]关于随机对照试验质量评价标准: (1)随机方法是否正确; (2)是否进行分配隐藏; (3)是否实施盲法; (4)有无描述失访或退出; (5)如有失访或退出时, 有无采用意向性(intention-to-treat, ITT)分析. 所有质量评价标准均满足, 低风险偏倚, 评为A级; 一个或多个质量评价标准仅部分满足(或不清楚), 中度风险偏倚, 评为B级; 一个或多个质量评价标准都不满足(未使用或不正确), 高度风险偏倚, 评为C级.

统计学处理 采用Cochrane协作网提供的RevMan 5.2软件进行统计学分析. 首先对纳入研究进行异质性检验, 若无异质性(P>0.10, I^2<50%), 采用固定效应模型合并; 反之, 则采用随机效应模型, 并对其进行敏感性分析. 二分类变量采用比值比(odds ratio, OR)作为系统评价指标, 区间估计采用95%可信区间(CI), P<0.05为差异有统计学意义. 采用倒漏斗图分析可能的发表偏倚.

2 结果

2.1 检索结果和质量评价 根据检索策略, 年限从2005-01/2012-12, 共检索到相关文献35篇, 文献来源主要是中国期刊全文数据库和维普数据库,

■研发前沿
目前普遍认为HBV的慢性感染是病毒和宿主机体免疫相互作用的结果, 机体免疫系统在控制病毒复制中发挥了至关重要的作用. 在恩替卡韦抗病毒的基础上, 加用具有抗病毒、免疫调节等作用的苦参素能否提高治疗效果, 值得探讨.

■相关报道
杨诗杰等对拉米夫定联合苦参素对CHB血清HBsAg的影响进行荟萃分析, 结果显示疗程为12 mo时联合组血清HBsAg转阴率优于拉米夫定单用, 且随着疗程的延长, 联合治疗组血清HBsAg转阴率的疗效有优于单用拉米夫定的趋势.

■创新盘点

本文采用荟萃分析的方法, 从统计学角度系统分析了恩替卡韦联合苦参素与单用恩替卡韦比较治疗HBeAg阳性CHB的疗效, 具有一定创新性, 对临床使用苦参素抗病毒治疗提高循证医学依据.

表 1 纳入研究疗效判定指标的结果 (*n*)

纳入研究	年份	HBV-DNA转阴率		HBeAg转阴率		ALT复常率		HBeAg血清转换率	
		治疗组	对照组	治疗组	对照组	治疗组	对照组	治疗组	对照组
刘兴峰[7]	2007	26/29	25/31	–	–	27/29	22/31	15/29	3/31
颜晶晓[8]	2009	35/39	44/51	14/39	5/51	34/39	31/51	9/39	5/51
邵志林等[9]	2010	40/48	28/44	39/48	26/44	38/48	33/44	33/48	21/44
邱明华[10]	2011	18/20	17/20	–	–	20/20	20/20	17/20	11/20
尹蔚华等[11]	2011	26/30	22/30	17/30	10/30	–	–	10/30	6/30
丁月荷[12]	2011	32/35	26/30	14/35	5/30	33/35	24/30	–	–
张天晓等[13]	2012	38/41	21/40	19/41	10/40	37/41	19/40	16/41	7/40
张小河等[14]	2012	–	–	25/40	4/34	36/40	18/34	–	–
杨亦德等[15]	2012	49/60	37/60	–	–	55/60	46/60	21/60	11/60
余建国等[16]	2012	14/40	12/43	15/40	12/43	31/40	27/43	–	–
合计		278/342	232/349	143/273	72/272	311/352	240/353	121/267	64/276

表中数据为临床好转人数/总观察例数. HBV: 乙型肝炎病毒; HBeAg: 乙型肝炎E抗原; ALT: 丙氨酸转氨酶.

表 2 治疗组和对照组各判定指标的荟萃分析

疗效判定指标	率(%)		异质性检验		合并效应量			
	治疗组	对照组	*P*值	I^2值(%)	OR值	95%CI	*Z*值	*P*值
血清HBV DNA转阴率	81.3	66.5	0.43	0	2.49	1.70, 3.66	4.67	< 0.01
血清HBeAg转阴率	52.3	26.5	0.23	27	3.27	2.23, 4.80	6.07	< 0.01
转氨酶ALT复常率	88.4	68.0	0.15	34	3.62	2.43, 5.39	6.31	< 0.01
HBeAg血清转换率	45.3	23.2	0.65	0	2.98	2.00, 4.44	5.37	< 0.01

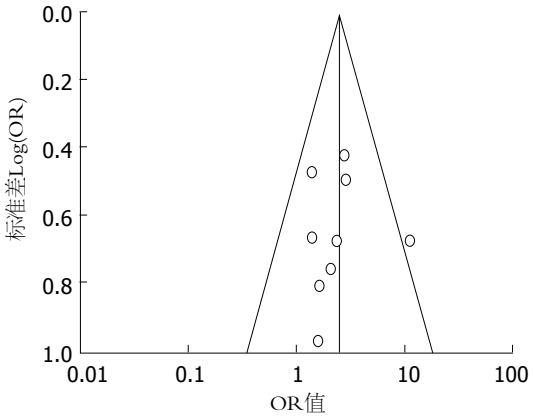


图 1 纳入研究的HBV-DNA转阴率漏斗图.

阅读文题排除无关和重复文献后, 最后筛选出10篇[6-15]符合纳入和排除标准的文献. 入选研究共包括CHB患者765例(试验组382例, 对照组383例), 其中3项研究[6,9,13]采用苦参素注射制剂, 余研究均采用苦参素口服制剂. 10篇文献均在文中提及“随机”但未进行详细描述; 均未报道盲法及分配隐藏的情况; 1篇[7]有失访报道, 但未进行ITT分析; 均提及基线有可比性. 质量评级均为C级. 10项研究的结果见表1.

2.2 统计分析结果 异质性检验结果示各项研究间无异质性(P>0.10, I^2<50%), 选择固定效应模型合并OR值, 并计算合并OR值的95%CI. 4个结局指标合并OR值的95%CI均不包括1, P<0.01, 差异有统计学意义, 认为恩替卡韦联合苦参素对HBeAg阳性CHB的抗病毒疗效显著优于恩替卡韦单用(表2).

2.3 发表偏倚和敏感性分析 采用Cochrane图书馆推荐倒漏斗图识别发表偏倚, 对纳入研究的HBV-DNA转阴率绘制倒漏斗图, 倒漏斗图基本以中线为中心对称排列, 表明发表偏倚小(图1). 对各疗效判定指标采用随机效应模型进行敏感性分析, 前后两次结论均相同, 表明分析结果稳定.

3 讨论

CHB治疗目的是减少或阻止失代偿肝硬化和原发性肝细胞癌的发生, 提高生活质量, 延长生存时间[1-3], 而有效的抑制病毒复制, 使血清HBV-DNA水平持续低于检测值下限(<300 copies/mL)能降低疾病进展的风险[16,17].

恩替卡韦是一种有效的、选择性抑制病毒复制的环戊酰鸟嘌呤核苷类似物, 由Bristol-Myers Squibb公司研究开发. Ⅱ、Ⅲ期临床试验表明, 成人口服0.5 mg/d能有效的抑制HBV DNA复制, 无论HBeAg阳性或阴性的CHB, 疗效均优于拉米夫定[18,19]; 对于肝功能失代偿期CHB患者, 每日口服1.0 mg治疗效果优于阿德福韦酯, 表现出较好的疗效和安全性[20]; 对于初治的CHB患者连续治疗1、3、5年, 变异耐药检出率分别为0%、1.2%和1.2%[21,22], 而对于耐拉米夫定的病毒突变患者仍有较好的疗效, 且每日口服剂量1.0 mg治疗效果要优于0.5 mg[23]; 体外细胞实验未见线粒体毒性[24], 虽有文献[25]报道了恩替卡韦在治疗肝功能失代偿期CHB中出现了乳酸酸中毒病例, 但未服用恩替卡韦的肝功能失代偿患者亦会出现乳酸酸中毒[26], 因此未有足够证据证明其是恩替卡韦所致. 尽管恩替卡韦较其他核苷(酸)类药物取得了较好的成绩, 但仍未满足CHB患者的医疗需求. 最新的研究发现, 恩替卡韦治疗CHB血清HBsAg转阴率欧美种族患者最高可达21%, 而亚裔种族患者仅为0.5%[27]. 苦参素是从中药苦豆子或苦参中提取的有效成分, 主要成分是氧化苦参碱, 临床试验证实有直接抗病毒、免疫调节、抗纤维化、降酶、退黄的作用[28,29]. 苦参素制剂是我国首创的治疗药物, 安全性好, 不良反应少而轻, 停药后随访6 mo有持久疗效[28]. 在恩替卡韦治疗CHB的基础上加用苦参素能否提高患者血清病毒标志物转阴率, 值得探讨.

为此, 本研究收集了2005-2012年国内恩替卡韦联合苦参素治疗HBeAg阳性CHB的所有相关文献, 对治疗结束时的血清HBV-DNA转阴率、血清HBeAg转阴率、ALT复常率和HBeAg血清转换率4个指标进行了荟萃分析. 结果表明: (1)在恩替卡韦治疗HBeAg阳性CHB基础上加用苦参素制剂, 其疗效优于恩替卡韦单用, 两者有协同抗病毒作用; (2)联合方案使用安全方便, 具有良好的依从性和耐受性, 未出现因不良反应或实验室指标异常而终止治疗的病例, 有利于完成抗病毒治疗的规范疗程, 值得临床推广.

荟萃分析纳入较为严格的临床设计研究, 从不同地方不同人群汇集较多的病例来观察同一个问题, 采用较为客观的疗效判定指标, 使分析的结果更加真实可靠. 但荟萃分析结果的论证强度受制于纳入研究的质量. 本研究纳入的每篇文献样本量偏小, 且多数忽视了对失访、脱落、混杂因素及ITT分析等方法学质量上的控制以及无法收集到很难发表的阴性结果的研究, 使得分析结果的质量受到一定程度的影响. 目前我国苦参素制剂有针剂和胶囊两种类型, 但两者在血清病毒标志物转阴和肝功复常上无显著性差异($P>0.05$)[29]. 因此, 本研究未对其进行具体的分类. 本研究仅评价恩替卡韦联合苦参素治疗HBeAg阳性CHB近期疗效和安全性, 对于其远期随访疗效如何、延长疗程能否提高疗效、治疗HBeAg阴性CHB的疗效如何等, 尚待设计严谨的临床研究加以证实.

■应用要点

恩替卡韦为新一代核苷(酸)类似物, 具有较强的抗病毒效能和理想的耐药性. 苦参素制剂是我国首创的治疗药物, 安全性好, 不良反应少而轻, 停药后随访6 mo有持久疗效. 两者有协同抗病毒作用, 安全有效, 值得临床推广.

4 参考文献

1 Liaw YF, Kao JH, Piratvisuth T, Chan HLY, Chien RN, Liu CJ, Gane E, Locarnini S, Lim SG, Han KH, Amarapurkar D, Cooksley G, Jafri W, Mohamed R, Hou JL, Chuang WL, Lesmana AL, Sollano JD, Suh DJ, Omata M. Asian-Pacific consensus statement on the management of chronic hepatitis B: a 2012 update. *Hepatol Int* 2012; 6: 531-561 In press. [DOI: 10.1007/s12072-012-9365-4]

2 European Association For The Study Of The Liver. EASL clinical practice guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 2012; 57: 167-185 [PMID: 22436845 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.02.010]

3 Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B: update 2009. *Hepatology* 2009; 50: 661-662 [PMID: 19714720 DOI: 10.1002/hep.23190]

4 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案. 中华肝脏病杂志 2000; 8: 324-329

5 Higgins JPT, Green S, editors. Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions Version 5.1.0. 2011-03. Available from: URL: http: //handbook.cochrane.org/

6 刘兴峰, 张扬立, 宁小艳. 恩替卡韦联合苦参素治疗慢性乙型肝炎疗效观察. 华北煤炭医学院学报 2007; 19: 256-258

7 颜晶晓. 恩替卡韦联合苦参素治疗慢性乙型病毒性肝炎效果观察. 中国乡村医药 2009; 16: 21

8 邵志林, 张炳煌. 恩替卡韦联合苦参素治疗HBeAg阳性慢性乙型肝炎的疗效观察. 中国中西医结合消化杂志 2010; 18: 92-94

9 邱明华. 苦参素联合恩替卡韦治疗慢性乙型肝炎疗效观察. 实用临床医药杂志 2010; 14: 41-44

10 尹蔚华, 倪慧慧. 恩替卡韦联合苦参素治疗HBeAg阳性慢性乙型肝炎的疗效观察. 临床合理用药 2011; 4: 60-61

11 丁月荷. 观察恩替卡韦联合苦参素胶囊治疗慢性乙型肝炎的疗效. 中国临床药理学杂志 2011; 27: 566-567

12 张天晓, 彭福江. 恩替卡韦联合苦参素片治疗慢性乙型肝炎41例疗效观察. 新中医 2012; 44: 67-68

13 张小河, 庄建奖. 恩替卡韦联合苦参素治疗慢性乙型肝炎的疗效观察. 中国基层医药 2012; 19: 531-532

14 杨亦德, 侯伟. 恩替卡韦联合苦参素治疗HBeAg阳性慢性乙型肝炎的疗效分析. 中国现代医生 2012; 50: 64-65

15 余建国, 郁宝华. 恩替卡韦联合苦参素胶囊治疗慢性乙型肝炎40例临床观察. 山西医药杂志 2012; 41: 1285-1286

■同行评价
本文从统计学角度分析恩替卡韦联合苦参素与单用恩替卡韦比较治疗HBeAg阳性CHB的疗效, 研究方法合理, 数据真实可信, 具有一定创新性, 为临床使用苦参素抗病毒治疗提供循证医学依据.

16 Chen CJ, Yang HI. Natural history of chronic hepatitis B REVEALed. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26: 628-638 [PMID: 21323729 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06695.x]
17 Chen CF, Lee WC, Yang HI, Chang HC, Jen CL, Iloeje UH, Su J, Hsiao CK, Wang LY, You SL, Lu SN, Chen CJ. Changes in serum levels of HBV DNA and alanine aminotransferase determine risk for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2011; 141: 1240-1248, 1240-1248 [PMID: 21703214 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.06.036]
18 Chang TT, Gish RG, de Man R, Gadano A, Sollano J, Chao YC, Lok AS, Han KH, Goodman Z, Zhu J, Cross A, DeHertogh D, Wilber R, Colonno R, Apelian D. A comparison of entecavir and lamivudine for HBeAg-positive chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2006; 354: 1001-1010 [PMID: 16525137 DOI: 10.1056/NEJMoa051285]
19 Lai CL, Shouval D, Lok AS, Chang TT, Cheinquer H, Goodman Z, DeHertogh D, Wilber R, Zink RC, Cross A, Colonno R, Fernandes L. Entecavir versus lamivudine for patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2006; 354: 1011-1020 [PMID: 16525138 DOI: 10.1056/NEJMoa051287]
20 Liaw YF, Raptopoulou-Gigi M, Cheinquer H, Sarin SK, Tanwandee T, Leung N, Peng CY, Myers RP, Brown RS, Jeffers L, Tsai N, Bialkowska J, Tang S, Beebe S, Cooney E. Efficacy and safety of entecavir versus adefovir in chronic hepatitis B patients with hepatic decompensation: a randomized, open-label study. *Hepatology* 2011; 54: 91-100 [PMID: 21503940 DOI: 10.1002/hep.24361]
21 Yuen MF, Seto WK, Fung J, Wong DK, Yuen JC, Lai CL. Three years of continuous entecavir therapy in treatment-naïve chronic hepatitis B patients: VIRAL suppression, viral resistance, and clinical safety. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 1264-1271 [PMID: 21364549 DOI: 10.1038/ajg.2011.45]
22 Tenney DJ, Rose RE, Baldick CJ, Pokornowski KA, Eggers BJ, Fang J, Wichroski MJ, Xu D, Yang J, Wilber RB, Colonno RJ. Long-term monitoring shows hepatitis B virus resistance to entecavir in nucleoside-naive patients is rare through 5 years of therapy. *Hepatology* 2009; 49: 1503-1514 [PMID: 19280622 DOI: 10.1002/Hep.22841]
23 Chang TT, Gish RG, Hadziyannis SJ, Cianciara J, Rizzetto M, Schiff ER, Pastore G, Bacon BR, Poynard T, Joshi S, Klesczewski KS, Thiry A, Rose RE, Colonno RJ, Hindes RG. A dose-ranging study of the efficacy and tolerability of entecavir in Lamivudine-refractory chronic hepatitis B patients. *Gastroenterology* 2005; 129: 1198-1209 [PMID: 16230074 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.06.055]
24 Mazzucco CE, Hamatake RK, Colonno RJ, Tenney DJ. Entecavir for treatment of hepatitis B virus displays no in vitro mitochondrial toxicity or DNA polymerase gamma inhibition. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52: 598-605 [PMID:18056280 DOI: 10.1128/AAC.01122-07]
25 Lange CM, Bojunga J, Hofmann WP, Wunder K, Mihm U, Zeuzem S, Sarrazin C. Severe lactic acidosis during treatment of chronic hepatitis B with entecavir in patients with impaired liver function. *Hepatology* 2009; 50: 2001-2006 [PMID: 19937695 DOI: 10.1002/hep.23346]
26 Shim JH, Lee HC, Kim KM, Lim YS, Chung YH, Lee YS, Suh DJ. Efficacy of entecavir in treatment-naïve patients with hepatitis B virus-related decompensated cirrhosis. *J Hepatol* 2010; 52: 176-182 [PMID: 20006394 DOI: 10.1016/j.jhep.2009.11.007]
27 Lampertico P, Liaw YF. New perspectives in the therapy of chronic hepatitis B. *Gut* 2012; 61 Suppl 1: i18-i24 [PMID: 22504916 DOI: 10.1136/gutjnl-2012-302085]
28 于岩岩, 斯崇文, 曾争, 王勤环, 周霞秋, 张清波, 黄祖瑚, 张玲霞, 乔光彦. 苦参素制剂治疗慢性乙型肝炎的临床试验. 中华内科杂志 2001; 40: 843-846
29 陆伦根, 曾民德, 茅益民, 李继强, 万谟彬, 李成忠, 陈成伟, 傅青春, 王吉耀, 佘为民, 蔡雄, 叶军, 周霞秋, 王晖, 巫善明, 唐美芳, 朱金水, 陈维雄, 张惠泉. 氧化苦参碱胶囊治疗慢性乙型病毒性肝炎的随机、双盲、安慰剂对照多中心临床研究. 肝脏 2002; 7: 218-221

编辑 田滢 电编 鲁亚静

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》栏目设置

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2013年5月28日; 21(15): 1437-1441
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

重组人p53腺病毒注射液在原发性肝癌介入化疗中的应用价值

冯晓峰, 郑永志, 周春柳, 孔祥毓, 李淑德, 孙卫东

冯晓峰, 郑永志, 周春柳, 孙卫东, 中国人民解放军第113医院消化内科 浙江省宁波市 315040
郑永志, 周春柳, 孔祥毓, 李淑德, 上海长海医院消化内科 上海市 200433
冯晓峰, 主治医师, 主要从事消化系疾病的临床研究.
作者贡献分布: 冯晓峰与郑永志对本文贡献均等; 此课题由孙卫东与李淑德设计; 研究过程由冯晓峰、郑永志、周春柳、孔祥毓、李淑德及孙卫东操作完成; 本论文写作由冯晓峰、郑永志及孙卫东完成.
通讯作者: 孙卫东, 副主任医师, 315040, 浙江省宁波市中山东路377号, 中国人民解放军第113医院消化内科.
sunwd113@163.com
收稿日期: 2013-03-17 修回日期: 2013-04-03
接受日期: 2013-04-12 在线出版日期: 2013-05-28

Gendicine in interventional chemotherapy of primary hepatocarcinoma

Xiao-Feng Feng, Yong-Zhi Zheng, Chun-Liu Zhou, Xiang-Yu Kong, Shu-De Li, Wei-Dong Sun

Xiao-Feng Feng, Yong-Zhi Zheng, Chun-Liu Zhou, Wei-Dong Sun, Department of Gastroenterology, the113rd Hospital of PLA, Ningbo 315041, Zhejiang Province, China
Yong-Zhi Zheng, Chun-Liu Zhou, Xiang-Yu Kong, Shu-De Li, Department of Gastroenterology, Changhai Hospital, Shanghai 200433, China
Correspondence to: Wei-Dong Sun, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, the 113rd Hospital of PLA, 377 Zhongshan East Road, Ningbo 315041, Zhejiang Province, China. sunwd113@163.com
Received: 2013-03-17 Revised: 2013-04-03
Accepted: 2013-04-12 Published online: 2013-05-28

Abstract

AIM: To prospectively evaluate the value of Gendicine (recombinant human adenovirus p53 injection) in interventional chemotherapy of primary hepatocarcinoma.

METHODS: A total of 162 patients with primary hepatocarcinoma who were treated from January 2008 to December 2010 at Shanghai Changhai Hospital and the 113rd Hospital of PLA were recruited in the study. They were randomly divided into three groups: an intratumoral injection group, a hepatic artery perfusion group, and a control group. The intratumoral injection group (n = 56) underwent intratumoral injection of Gendicine plus hepatic arterial infusion chemotherapy. The hepatic artery perfusion group (n = 62) underwent hepatic artery perfusion of Gendicine and hepatic arterial infusion chemotherapy. The control group (n = 44) underwent simple hepatic arterial infusion chemotherapy. Follow-up period was 24 mo. The efficacy and adverse reactions were observed.

RESULTS: The short-term effects were assessed at one month. In the intratumoral injection group, complete remission was achieved in 6 cases, partial remission in 42 cases, stable disease in 5 cases, and progressive disease in 3 cases. The corresponding figures in hepatic artery perfusion group were 7, 42, 8 and 5, and 1, 22, 13, and 8, respectively. The efficacy was significant better in the two experimental groups than in the control group (both $P < 0.01$), although no significant difference was noted between the two experimental groups. The 6-, 12-, and 24-month survival rates were 80.4%, 72.7% and 23.6% in the intratumoral injection group, 77.4%, 67.7% and 21.3% in the hepatic artery perfusion group, and 56.8%, 47.7% and 14% in the control group. Although there was no significant difference in survival rates between the two experimental groups, the 6- and 12-month survival rates were significantly better in the two experimental groups than in the control group (all $P < 0.05$). However, there was no significant difference in the 24-month survival rate between the three groups. No serious adverse reactions were observed in the two experimental groups.

CONCLUSION: Gendicine can enhance the efficacy of interventional chemotherapy for primary hepatocarcinoma, with no increase in serious adverse events. The efficacy of intratumoral injection of Gendicine is not superior to hepatic arterial infusion of Gendicine.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

■背景资料
肝癌是世界范围内常见的恶性肿瘤, 肝动脉介入化疗为肝癌非手术治疗的重要方法. 重组人p53腺病毒注射液是世界上第一个获准上市的肿瘤基因治疗药物, 目前临床已经开展应用该药物治疗包括肝癌在内的多种恶性肿瘤的治疗.

■同行评议者
党双锁, 教授, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科; 王阁, 教授, 中国人民解放军第三军医大学第三附属医院

■相关报道
官泳松和郑永法等开展的研究报道已经证实重组人p53腺病毒注射液对于包括肝癌在内的肿瘤的疗效显著，有些还是较大样本的系统性研究.

Key Words: Gendicine; *p53* gene; Primary hepatocarcinoma; Interventional chemotherapy

Feng XF, Zheng YZ, Zhou CL, Kong XY, Li SD, Sun WD. Gendicine in interventional chemotherapy of primary hepatocarcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(15): 1437-1441 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1437.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i15.1437

摘要

目的: 前瞻性研究重组人p53腺病毒注射液(重组人p53腺病毒)在肝癌介入化疗中的应用价值.

方法: 分析2008-01-01/2010-12-31期间在上海长海医院和中国人民解放军第113医院行肝癌介入治疗的162例肝癌, 随机分为A实验组(n = 56)采用重组人p53腺病毒注射液瘤体内注射加肝动脉介入化疗、B实验组(n = 62)采用重组人p53腺病毒注射液亦经肝动脉灌注和C对照组(n = 44)单纯肝动脉介入化疗, 随访24 mo观察其疗效及不良反应发生情况.

结果: 近期疗效1 mo后评估A实验组完全缓解6例, 部分缓解42例, 稳定5例, 进展3例; B实验组完全缓解7例, 部分缓解42例, 稳定8例, 进展5例; C对照组完全缓解1例, 部分缓解22例, 稳定13例, 进展8例; 就有效率来评估, A、B实验组之间无明显差异(P>0.05), 2个实验组疗效均明显优于对照组(P<0.01). 远期疗效6、12、24 mo生存率分别为: A实验组: 80.4%、72.7%和23.6%; B实验组:77.4%、67.7%和21.3%; C对照组: 56.8%、47.7%和14%; 每个观察点的生存率, A、B实验组之间无明显差异(P>0.05), 2个实验组在6和12 mo生存率均明显优于对照组(P<0.05), 在24 mo时生存率之间无明显差异. 实验组均未发生严重不良反应.

结论: 重组人p53腺病毒注射液可以增强肝癌介入化疗的疗效, 没有严重不良反应发生; 瘤体内注射疗效要并不优于肝动脉灌注, 但仍需进一步的研究评估.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 重组人p53腺病毒注射液(重组人p53腺病毒); *p53*基因; 肝癌; 介入化疗

核心提示: 重组人p53腺病毒注射液可以增强肝癌介入化疗的疗效, 没有严重不良反应发生, 为肝癌的介入治疗提供更多的选择, 进而为广大患者带来新的福音.

冯晓峰, 郑永志, 周春柳, 孔祥毓, 李淑德, 孙卫东. 重组人p53腺病毒注射液在原发性肝癌介入化疗中的应用价值. 世界华人消化杂志 2013; 21(15): 1437-1441 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1437.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i15.1437

0 引言

肝癌是世界范围内常见的恶性肿瘤, 在我国的发病率也很高, 疾病进展较快, 患者就诊时往往已是中晚期, 绝大多数已经失去手术机会. 随着医学实践的发展, 肝动脉介入化疗因其疗效比较可靠, 微创及不良反应少, 已经成为肝癌非手术治疗的非常重要的方法. 重组人p53腺病毒注射液是世界上第一个获准上市的肿瘤基因治疗药物, 他是由5型腺病毒载体DNA和人*p53*肿瘤抑制基因重组, 并形成有活性的基因工程重组腺病毒颗粒, 目前临床已经开展应用该药物治疗包括肝癌在内的多种恶性肿瘤的治疗[1-3]. 然而这方面绝大部分的研究报道是回顾性研究, 为此我们选择2008-01-01/2010-12-31在上海长海医院和中国人民解放军第113医院行肝癌介入治疗的162例中晚期肝癌, 开展了应用重组人p53腺病毒注射液辅助治疗的前瞻性研究, 现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2008-01-01/2010-12-31在上海长海医院和中国人民解放军第113医院行肝癌介入治疗的162例中晚期肝癌患者, 男101例, 女61例; 年龄56.2岁±3.4岁. 该研究经医院伦理委员会审查批准, 接受重组人p53腺病毒注射液辅助治疗的患者均已了解基因治疗的有关情况, 并签署各种知情同意书. 病例入选标准: (1)年龄在18-70岁, 预计生存期在6 mo以上; (2)经临床或者病理学证实为肝癌, 无肝癌肺部转移; (3)无手术指证或者充分告知患者本人病情后选择介入治疗, 既往未进行过肝动脉栓塞化疗; (4)影像学检查提示肝脏内肿瘤数<3个, 且肿瘤体积小于肝脏的1/3; (5)血生化示转氨酶在2倍参考值上限范围内; (6)接受其他治疗(如放化疗射频治疗等)间歇期在12 wk以上. 在此基础上符合肝动脉介入治疗的适应症且无禁忌症的患者.患者随机分为A实验组(n = 56)采用重组人p53腺病毒注射液瘤体内注射加肝动脉介入化疗、B实验组(n = 62)采用重组人p53腺病毒注射液亦经肝动脉灌注和C对照组(n = 44)单纯肝动脉介

表 1 重组人p53腺病毒注射液治疗的近期疗效评价 (*n*)

分组	*n*	完全缓解	部分缓解	稳定	进展	有效率(%)
A组	56	6	42	5	3	85.7
B组	62	7	42	8	5	79.0
C组	44	1	22	13	8	52.3

A组: 实验组采用重组人p53腺病毒注射液瘤体内注射加肝动脉介入化疗; B组: 实验组采用重组人p53腺病毒注射液亦经肝动脉灌注; C组: 对照组单纯肝动脉介入化疗.

入化疗. 重组人p53腺病毒注射液由深圳赛百诺基因技术有限公司生产, 主要成分是一种携带p53 cDNA的复制缺陷型腺病毒, 批准文号“国药准字S20040004”, 规格每支1×10^{12} VP/mL, 冰箱-20 ℃保存, 室温融化后使用. 根据肿瘤大小, 用量在1-3支. 注射用奥沙利铂由江苏恒瑞医药股份有限公司生产, 规格是50 mg/支, 剂量为体表面积130 mg/m^2. 5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)注射液由山西太原药业公司生产, 规格是250 mg/支, 剂量为1000 mg.

1.2 方法

1.2.1 治疗方法: C对照组单纯采用肝动脉介入化疗, 方法是常规股动脉穿刺用Seldinger法将5F导管置于腹腔动脉或者肝总动脉, 做肠系膜上动脉或者膈动脉造影, 以寻找肿瘤血供动脉, 采用超选择性插管技术将导管插至肿瘤供血动脉注入奥沙利铂和5-FU. 术后压迫包扎手术部位. 治疗间隔周期为1 mo, 如果肿瘤仍然存在, 则继续治疗, 至少为3个周期. A实验组采用重组人p53腺病毒注射液瘤体局部注射加肝动脉介入化疗的方法, 具体是在超声或者CT引导下经皮瘤体内注射重组人p53腺病毒注射液, 用量依据瘤体大小, 采取多点注射, 用量在1-3支之间; 接下来在48 h后行肝动脉介入化疗, 方法同前. B实验组采用重组人p53腺病毒注射液亦经肝动脉灌注的方法, 用量也在1-3支之间, 治疗程序同肝动脉化疗, 只是在肝动脉在灌注药物时加用重组人p53腺病毒注射液.

1.2.2 疗效评价: 近期疗效评价采用2009年WHO实体肿瘤客观疗效评定[4], 分为完全缓解(complete remission, CR): 全部病灶消失并维持4 wk; 部分缓解(partial remission, PR): 病灶长径总和变化缩小≥30%并维持4 wk; 稳定(stable disease, SD): 缩小未达到PR或增加未到疾病进展; 进展(progressive disease, PD): 病灶长径总和增加≥20%或出现新病灶. 以CR+PR合计为有效率(response rate, RR). 远期疗效采用术后6、12及24 mo的生存率来评价. 方法以患者来院复查为主, 辅以电话信函的方法进行. 不良反应评估按照WHO抗癌药物不良反应分级分为0-Ⅳ度评价[5].

统计学处理 计数资料采用χ^2检验, 两样本率比较采用*U*检验.

2 结果

2.1 一般情况 应用重组人p53腺病毒注射液辅助治疗的实验组患者118例, 最多完成8次治疗, 最少完成3次治疗, 治疗中位次数是5次. A实验组有1例患者在术后12 mo时失访, B实验组在和C对照组各有1例在术后24 mo时失访.

2.2 近期疗效评价 介入治疗前后均检查增强CT或MRI, 于治疗后第4周复查的CT或MRI结果对比, 根据WHO实体肿瘤疗效评价通用标准, A *vs* B χ^2 = 0.90, *P*>0.05, AB组间瘤体大小变化无统计学差异; A *vs* C χ^2 = 13.38, *P*<0.01, AC组间瘤体大小变化有统计学差异; B *vs* C χ^2 = 8.46, *P*<0.01, BC组间瘤体大小变化有统计学差异(表1).

2.3 远期疗效评价 术后6、12及24 mo随访评估患者的生存率, 术后6 mo A *vs* B *U* = 0.398, *P*>0.05, AB组间生存率无统计学差异; 术后6 mo A *vs* C *U* = 2.557, *P*<0.05, AC组间生存率有统计学差异; 术后6 mo B *vs* C *U* = 2.256, *P*<0.05, BC组间生存率有统计学差异. 术后12 mo A *vs* B *U* = 0.588, *P*>0.05, AB组间生存率无统计学差异; 术后12 mo A *vs* C *U* = 2.541, *P*<0.05, AC组间生存率有统计学差异; 术后12 mo B *vs* C *U* = 2.066, *P*<0.05, BC组间生存率有统计学差异. 术后24 mo A *vs* B *U* = 0.297, *P*>0.05, AB组间生存率无统计学差异; 术后24 mo A *vs* C *U* = 1.391, *P*>0.05, AC组间生存率无统计学差异; 术后24 mo B *vs* C *U* = 0.949, *P*>0.05, BC组间生存率无统计学差异(表2).

2.4 不良反应 采用重组人p53腺病毒注射液辅助治疗的118例患者中, 出现Ⅲ-Ⅳ级的不良反应23例, 包括白细胞下降12例(10.2%)、血小板下降7例(5.9%)及恶心呕吐4例(3.4%). 最常见的不良反应是发热, 其次是寒战. 66例发生了发热反应, 其中43例发生Ⅰ度发热, 对症处理后无其他不良反应; 23例出现Ⅱ度发热反应, 亦经过对症处理后体温降至正常(表3).

■创新盘点
本文是前瞻性的对照研究, 纳入病例数较多, 且随访评价较为全面, 具有一定指导意义.

■应用要点
为重组人p53腺病毒注射液的临床应用提供了新的依据, 对肝癌介入诊疗增加新的药物选择. 随着肿瘤综合治疗的进展, 包括重组人p53腺病毒注射液在内的基因治疗会有广阔的应用前景.

表 2 术后6、12及24 mo患者的生存率 (%)

	n	6 mo	12 mo	24 mo
A组	56	80.40	72.7	23.6
B组	62	77.4	67.7	21.3
C组	44	56.8	47.7	14.0

A组: 实验组采用重组人p53腺病毒注射液瘤体内注射加肝动脉介入化疗; B组: 实验组采用重组人p53腺病毒注射液亦经肝动脉灌注; C组: 对照组单纯肝动脉介入化疗.

表 3 重组人p53腺病毒注射液辅助治疗肝癌的不良反应 (*n*)

不良反应	0	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ
白细胞下降	67	26	13	12	0
血小板下降	85	17	9	7	0
肝功能损害	95	17	6	0	0
肾功能损害	96	15	7	0	0
发热	52	43	23	0	0
寒战	77	22	19	0	0
皮疹	112	4	2	0	0
恶心呕吐	69	28	17	4	0

3 讨论

在肝癌的非手术治疗中, 肝动脉介入治疗被认为非常有效的一种方法, 通过插管至肿瘤供血动脉进行用药, 提升肿瘤细胞周围药物的浓度及药物接触时间, 达到提高疗效和减少不良反应的目的, 在临床治疗肝癌中的地位越来越重要. 重组人p53腺病毒注射液的主要作用是将治疗基因野生型*p53*转移或插入到肿瘤细胞内, 由基因表达大量p53蛋白, 然后*p53*基因通过表达产生的p53蛋白再通过一系列复杂的机制诱导肿瘤细胞停止和发生凋亡[6]. 同时肿瘤是一种多基因的疾病, 单纯的修正*p53*基因并不能完全逆转肿瘤基因的异常, 故重组人p53腺病毒注射液在使用时需要与其他药物联合使用[7].

作为临床研究, 术后患者失访是不可避免的, 在本研究中, 采用以门诊复查为主, 同时辅以书信及现代通信条件, 仍有3例患者失访.

在本研究中通过瘤体大小改变评估近期疗效. 采用WHO评价实体肿瘤的标准进行评估, 结果表明在术后4 wk进行评估时, 实验组的有效率明显优于对照组, 就瘤体大小这一评价指标来看, 重组人p53腺病毒注射液辅助治疗可以在术后4 wk时让瘤体缩小的改变更明显; 重组人p53腺病毒注射液的不同应用途径的疗效对临床应用来说应该是比较有意义的, 然而从本研究的初步结果来看, 重组人p53腺病毒注射液局部注射的疗效与经肝动脉灌注的疗效差异无统计学意义. 有学者认为重组人p53腺病毒注射液应该首选瘤内注射, 其他给药途径如经动脉[8]等可能会影响其疗效, 他们认为可能的原因有体液对重组人p53腺病毒注射液的中和作用[9]、p53抗体与蛋白的反应等. 人体液中存在对腺病毒特异性的中和抗体, 这是基因治疗的一个难点[10]. 本研究未能得出与此一致的结论, 我们认为尚不能认为这两种途径的疗效是不同的. 所以, 对于重组人p53腺病毒注射液应用途径这一非常重要的课题还需进一步研究.

远期疗效的评价主要通过生存率来进行. 对于肿瘤患者来说, 延长生存期是很重要的治疗目标. 本研究通过随访术后6、12及24 mo的生存率, 并比较各组的差别来评价各种治疗方法的疗效. 在6和12 mo观察点, 发现二实验组的生存率都明显优于对照组, 而实验组之间却无明显差异; 在24 mo观察点, 实验组与对照组的生存率都无明显差异, 这可能是随着随访时间的延长, 重组人p53腺病毒注射液的治疗效果的持续性减退有关, 其中的具体机制还不太清楚, 需要进一步的研究.

重组人p53腺病毒注射液耐受性好, 与细胞毒药物联合作用并不增加毒性[11]. 本研究结果也表明, 患者的不良反应也主要与化疗相关, 如胃肠道不适、骨髓抑制等, 重组人p53腺病毒注射液的使用并不增加化疗药物的毒性. 重组人p53腺病毒注射液导致的主要不良反应是发热, 并且多是一过性发热. 在本研究中主要是Ⅰ度发热反应, 经过物理降温等对照处理会消退, 其实在另一方面发热反应也似乎可以看做机体对重组人p53腺病毒注射液的反应性好, 同时治疗效果应该也较好, 当然这一推断需要进一步的研究证实.

当然, 该研究也有不足之处, 受研究条件所限, 如没有详细评价重组人p53腺病毒注射液辅助治疗后机体免疫系统的变化及各种免疫因子的改变, 术后长期随访资仅评价了生存率, 本研究纳入的部分病例病情较轻等.

肝动脉介入治疗作为肝癌的重要手段, 对于介入治疗的相关辅助药物的种类, 除了重组人p53腺病毒注射液之外, 许多学者对此做出有益的探索, 如殷飞等[12]报道了复方斑蝥胶囊对肝癌患者介入治疗前后免疫功能的影响的研究.

Mizukoshi等[13]报道了在肝动脉介入治疗时增加树突状细胞的研究. Nagano等[14]在一篇提到将干扰素和5-FU混合物用在介入治疗中的疗效, 为介入治疗肿瘤药物的选择提供了一些新的思路. Nakamoto等[15]也报道了加入树突细胞进行介入治疗的研究. Nakamoto等[16]进一步研究了添加树突细胞刺激因子OK432的可行性有效性等. Poggi等[17]报道了对于索拉非尼治疗耐受患者采用灌注西妥昔单抗5-FU及顺铂进行补救治疗的研究. 这些新型药物与重组人p53腺病毒注射液一起将会给肝癌的介入治疗提供更多的选择, 进而为广大患者带来实实在在地益处.

总之, 该研究初步表明重组人p53腺病毒注射液辅助治疗可以增强肝癌介入化疗的疗效, 尤其是近期疗效和6、12 mo的生存率明显优于对照组, 同时没有严重不良反应发生, 是安全有效的; 当然, 就远期疗效来讲, 24 mo的生存率并无优势, 所以进一步的研究还需评估该研究的安全性有效性等.

4 参考文献

1 关大刚, 郑旭. 重组人p53腺病毒注射液(今又生)临床研究进展. 现代肿瘤医学 2011; 19: 2560-2563
2 管泳松, 孙龙, 周翔平, 李肖, 贺庆, 刘源. 重组人p53腺病毒基因局部注射联合肝动脉化疗栓塞治疗原发性肝癌. 世界华人消化杂志 2005; 13: 125-127
3 Chen S, Chen J, Ma G, Xi W, Xu Q, Xu W, Yin G. Clinical Therapeutic Effect and Biological Monitoring of p53 Gene in Advanced Hepatocellular Carcinoma. *Am J Clin Oncol* 2011 Jan 6. *[Epub ahead of print]* [PMID: 21217397 DOI: 10.1097/COC.0b013e3181fe4688]
4 Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, Dancey J, Arbuck S, Gwyther S, Mooney M, Rubinstein L, Shankar L, Dodd L, Kaplan R, Lacombe D, Verweij J. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer* 2009; 45: 228-247 [PMID: 19097774 DOI: 10.1016/j.ejca.2008.10.026]
5 Miller AB, Hoogstraten B, Staquet M, Winkler A. Reporting results of cancer treatment. *Cancer* 1981; 47: 207-214 [PMID: 7459811 DOI: 10.1002/1097-0142(19810101)47:1<207::AID-CNCR2820470134>3.0.CO;2-6]
6 Roth JA. Adenovirus p53 gene therapy. *Expert Opin Biol Ther* 2006; 6: 55-61 [PMID: 16370914 DOI: 10.1517/14712598.6.1.55]
7 郑永法, 戈伟, 张令, 王慧敏, 邓君健. 今又生联合化疗治疗晚期恶性肿瘤的近期疗效观察. 生物医学工程与临床 2011; 15: 60-63
8 Atencio IA, Grace M, Bordens R, Fritz M, Horowitz JA, Hutchins B, Indelicato S, Jacobs S, Kolz K, Maneval D, Musco ML, Shinoda J, Venook A, Wen S, Warren R. Biological activities of a recombinant adenovirus p53 (SCH 58500) administered by hepatic arterial infusion in a Phase 1 colorectal cancer trial. *Cancer Gene Ther* 2006; 13: 169-181 [PMID: 16082381 DOI: 10.1038/sj.cgt.7700870]
9 Pichla-Gollon SL, Drinker M, Zhou X, Xue F, Rux JJ, Gao GP, Wilson JM, Ertl HC, Burnett RM, Bergelson JM. Structure-based identification of a major neutralizing site in an adenovirus hexon. *J Virol* 2007; 81: 1680-1689 [PMID: 17108028 DOI: 10.1128/JVI.02023-06]
10 官泳松, 贺庆. 肝癌介入治疗中应用p53的几个要点. 介入放射学杂志 2008; 17: 761-763
11 Tian G, Liu J, Zhou JS, Chen W. Multiple hepatic arterial injections of recombinant adenovirus p53 and 5-fluorouracil after transcatheter arterial chemoembolization for unresectable hepatocellular carcinoma: a pilot phase II trial. *Anticancer Drugs* 2009; 20: 389-395 [PMID: 19287305 DOI: 10.1097/CAD.0b013e32832a2df9]
12 殷飞, 李进军, 曹风, 姚树坤. 复方斑蝥胶囊对肝癌患者TACE治疗前后免疫功能的影响. 世界华人消化杂志 2011; 19: 1843-1846
13 Mizukoshi E, Nakamoto Y, Arai K, Yamashita T, Mukaida N, Matsushima K, Matsui O, Kaneko S. Enhancement of tumor-specific T-cell responses by transcatheter arterial embolization with dendritic cell infusion for hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer* 2010; 126: 2164-2174 [PMID: 19739081]
14 Nagano H. Treatment of advanced hepatocellular carcinoma: intraarterial infusion chemotherapy combined with interferon. *Oncology* 2010; 78 Suppl 1: 142-147 [PMID: 20616597 DOI: 10.1159/000315243]
15 Nakamoto Y, Kaneko S. [Dendritic cell-based immunotherapy for hepatocellular carcinoma]. *Gan To Kagaku Ryoho* 2010; 37: 413-416 [PMID: 20332677]
16 Nakamoto Y, Mizukoshi E, Kitahara M, Arihara F, Sakai Y, Kakinoki K, Fujita Y, Marukawa Y, Arai K, Yamashita T, Mukaida N, Matsushima K, Matsui O, Kaneko S. Prolonged recurrence-free survival following OK432-stimulated dendritic cell transfer into hepatocellular carcinoma during transarterial embolization. *Clin Exp Immunol* 2011; 163: 165-177 [PMID: 21087443 DOI: 10.1111/j.1365-2249.2010.04246.x]
17 Poggi G, Montagna B, Melchiorre F, Quaretti P, Delmonte A, Riccardi A, Tagliaferri B, Sottotetti F, Di Cesare P, Stella MG, Villani L, Zorzetto M, Greco G, Cornalba G, Bernardo G. Hepatic intra-arterial cetuximab in combination with 5-fluorouracil and cisplatin as salvage treatment for sorafenib-refractory hepatocellular carcinoma. *Anticancer Res* 2011; 31: 3927-3933 [PMID: 22110221]

■同行评价

本文紧密结合临床, 方法可行, 结果可靠并具有一定参考价值. 对于指导使用重组人p53腺病毒注射液在肝癌治疗中的应用有一定参考意义.

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2013年5月28日; 21(15): 1442-1447
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

DYRK2在胰腺癌中的表达及临床意义

李 旭, 王 敏, 江建新, 田 锐, 石程剑, 秦仁义

■背景资料
Hedgehog信号通路与胰腺癌的恶性生物学行为密切相关. 目前, 关于Hedgehog信号通路的研究大多关注于经典的Shh/Smo/Gli信号轴, 而对其旁支通路的研究却较少. 双特异性酪氨酸磷酸化调节激酶2(dual-specificity tyrosine phosphorylation-regulated kinase 2, DYRK2)是Hedgehog旁路信号中的主要调控分子, 但其在胰腺癌中的研究尚未见报道.

李旭, 王敏, 田锐, 石程剑, 秦仁义, 华中科技大学同济医学院附属同济医院胆胰外科中心 湖北省武汉市 430030
江建新, 贵阳医学院附属医院肝胆外科 贵州省贵阳市 550001
李旭, 在读博士, 主要从事胆道胰腺肿瘤方面的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81101621
中国高等教育博士学科青年学者研究基金资助项目, No. 20110142120014
作者贡献分布: 李旭、王敏及秦仁义对此文所作贡献均等; 此课题由王敏与秦仁义设计; 标本收集由李旭、江建新及石程剑完成; 研究过程由李旭与王敏操作完成; 数据分析由李旭与田锐完成; 本论文写作由李旭与秦仁义完成.
通讯作者: 秦仁义, 教授, 主任医师, 430030, 湖北省武汉市解放大道1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院胆胰外科.
ryqin@tjh.tjmu.edu.cn
电话: 027-83663814
收稿日期: 2013-03-07 修回日期: 2013-03-23
接受日期: 2013-04-12 在线出版日期: 2013-05-28

Clinical significance of expression of DYRK2 in pancreatic cancer

Xu Li, Min Wang, Jian-Xin Jiang, Rui Tian, Cheng-Jian Shi, Ren-Yi Qin

Xu Li, Min Wang, Rui Tian, Cheng-Jian Shi, Ren-Yi Qin, Department of Biliary-Pancreatic Surgery, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China
Jian-Xin Jiang, Department of Hepatobiliary Surgery, the Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550001, Guizhou Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81101621; Research Fund of Young Scholars for the Doctoral Program of Higher Education of China, No. 20110142120014
Correspondence to: Ren-Yi Qin, Professor, Chief Physician, Department of Pancreatic-Biliary Surgery, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 1095 Jiefang Dadao, Wuhan 430030, Hubei Province, China. ryqin@tjh.tjmu.edu.cn
Received: 2013-03-07 Revised: 2013-03-23
Accepted: 2013-04-12 Published online: 2013-05-28

Abstract

AIM: To investigate the expression of dual-specificity tyrosine phosphorylation-regulated kinase 2 (DYRK2) in human pancreatic cancer and to analyze its clinical significance.

METHODS: The expression of DYRK2 mRNA and protein in 40 human pancreatic cancer tissue samples and matched tumor-adjacent normal tissue samples were detected by real-time quantitative PCR, Western blot and immunohistochemistry. The relationship between DYRK2 expression and clinicopathologic characteristics of pancreatic cancer was then analyzed.

RESULTS: The expression of DYRK2 mRNA in pancreatic cancer was significantly lower than that in tumor-adjacent pancreatic tissue ($P < 0.01$). The expression of DYRK2 protein in 88.9% of pancreatic cancer tissue samples was lower than that in tumor-adjacent pancreatic tissue samples. The proportion of DYRK2-positive cells in pancreatic cancer was significantly lower than that in tumor-adjacent pancreatic tissue (42.5% *vs* 87.5%, $\chi^2 = 17.802$, $P < 0.01$). The expression of DYRK2 had a significant correlation with lymph node metastasis ($\chi^2 = 6.32$, $P < 0.05$), but not with other clinicopathologic characteristics.

CONCLUSION: The expression of DYRK2 is down-regulated in pancreatic cancer, and DYRK2 may be involved in the carcinogenesis, development and lymph node metastasis of this malignancy.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Pancreatic carcinoma; Dual-specificity tyrosine phosphorylation-regulated kinase 2; Lymph node metastasis

Li X, Wang M, Jiang JX, Tian R, Shi CJ, Qin RY. Clinical significance of expression of DYRK2 in pancreatic cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(15): 1442-1447
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1442.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i15.1442

摘要

目的: 探讨双特异性酪氨酸磷酸化调节激酶2(dual-specificity tyrosine phosphorylation-regulated kinase 2, DYRK2)在胰腺癌中的表达及其临床意义.

方法: 应用实时荧光定量PCR、Western blot及免疫组织化学技术检测40例胰腺癌及其癌旁正常组织标本中DYRK2 mRNA和蛋白的表达量, 并结合免疫组织化学结果及胰腺癌患者的

■同行评议者
刘亮, 副主任医师, 复旦大学胰腺癌研究所, 复旦大学附属肿瘤医院胰腺肝胆外科

临床病理资料进行统计学分析.

结果: 实时荧光定量PCR检测显示, DYRK2 mRNA在胰腺癌及其癌旁组织中均有表达, 但后者的表达水平明显高于前者(P<0.01); Western blot检测显示, 在88.9%的癌组织中DYRK2蛋白的表达量低于其对应的癌旁组织; 免疫组织化学染色显示, DYRK2在胰腺癌组织中的阳性比例明显低于其癌旁组织(42.5% *vs* 87.5%, χ^2 = 17.802, P<0.01), 且DYRK2的表达与胰腺癌有无淋巴结转移相关(χ^2 = 6.32, P<0.05).

结论: DYRK2在胰腺癌组织中表达下调, 可能与胰腺癌的发生发展和淋巴结转移等恶性生物学行为相关.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 胰腺癌; DYRK2; 淋巴结转移

核心提示: 本研究首次发现双特异性酪氨酸磷酸化调节激酶2(dual-specificity tyrosine phosphorylation-regulated kinase 2, DYRK2)在胰腺癌组织中表达下调, 而这可能是胰腺癌发生发展过程中重要分子生物学事件. 并且, DYRK2与胰腺癌的淋巴结转移情况相关, 其有望成为胰腺癌的一个预后判断指标.

李旭, 王敏, 江建新, 田锐, 石程剑, 秦仁义. DYRK2在胰腺癌中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(15): 1442-1447
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1442.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i15.1442

0 引言

胰腺癌是恶性程度最高的实体肿瘤之一. 尽管目前临床手术方式和各种综合治疗方法有所改进, 但患者的5年生存率却始终徘徊在5%左右[1]. 究其原因主要是由于胰腺癌具有极为恶性的生物学特征, 其发生隐匿、发展迅速, 绝大部分患者在确诊时已伴有局部或远处脏器肿瘤转移而丧失了手术时机; 同时胰腺癌对传统的化疗、放疗等综合治疗敏感性较差, 致使其生存率仍停滞于较低水平[2]. 因此, 进一步加强对胰腺癌恶性生物学特性的研究, 寻找新的诊断治疗靶点已成为当前研究的重点.

近年来研究发现Hedgehog信号通路在胰腺癌组织或细胞内存在异常表达, 且这种表达与胰腺癌的恶性生物学行为密切相关, 因此也一直是胰腺癌研究中的热点[3,4]. 然而, 目前有关Hedgehog信号通路的研究大多关注于经典的Shh/Smo/Gli信号轴, 对于其旁支通路的研究却较少, 而旁路信号的异常激活可能是导致Hedgehog上游信号阻滞剂阻滞效果不佳的主要原因[5]. 所以, 加强对Hedgehog旁路信号的研究具有十分重要的意义.

双特异性酪氨酸磷酸化调节激酶2(dual-specificity tyrosine phosphorylation-regulated kinase 2, DYRK2)是DYRKs家族的成员之一, 研究发现其同时也是Hedgehog旁路信号中的主要调控分子[6]. 目前关于DYRK2在肿瘤中的研究较少, 而其在胰腺癌中的作用尚未见报道. 本研究检测了胰腺癌及其癌旁组织中DYRK2的表达, 并分析其与胰腺癌临床病理特征之间的关系, 旨在初步探讨DYRK2在胰腺癌中的表达特点及其临床意义.

■研发前沿
研究表明DYRK2可能在调控细胞凋亡、DNA损伤修复和细胞周期中起重要作用. 然而, 关于其在肿瘤发生、发展中所扮演的角色目前尚未明确.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2009-01/2011-06本院接受胰十二指肠切除术的胰腺肿瘤临床标本, 术后经病理确诊为胰腺癌的标本共40例, 所有病例术前均未行放疗或化疗. 其中男19例, 女21例, 年龄36-82岁, 中位年龄56.5岁. 肿瘤位于胰头部28例, 胰体尾部12例. 术后每例标本常规送检淋巴结至少10枚, 经病理证实有淋巴结转移21例, 无淋巴结转移19例, 7例发生远处转移. 肿瘤组织类型以2010年胰腺癌UICC/AJCC TNM分期系统为判断标准, 其中高分化3例, 中分化19例, 低分化18例. 癌旁组织来源于同期肿瘤切除距肿瘤边缘4 cm的组织. 所有标本在手术切除后立即置于液氮中低温保存. 40例标本均常规行石蜡包埋, 另取18例新近收集的组织进行PCR和Western blot检测. TRIzol试剂购自美国Invitrogen公司; 逆转录试剂盒(ReverTra Ace® qPCR RT kit, FSQ-101)、荧光实时定量PCR试剂盒(SYBR® Green Realtime PCR Master Mix, QPK-201)均购自日本TOYOBO公司; 兔抗人DYRK2多克隆抗体购自美国ABGENT公司; 鼠抗人β-actin单克隆抗体购自美国Santa Cruz公司; 免疫组织化学SABC试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司; DYRK2及GAPDH引物序列由Invitrogen公司合成; 其余试剂均为国产分析纯试剂.

1.2 方法

1.2.1 样品总RNA的提取和cDNA的合成: 取组织样品约50 mg, 按TRIzol说明书提取其总RNA. 紫外分光光度计(Eppendorf BioPhotometer, 德国)检测总RNA在波长为260 nm和280 nm时的吸

■相关报道
Miller等报道在食管癌和肺腺癌中DYRK2的表达水平较对应的癌旁组织升高. 而Yamashita等报道DYRK2在肺腺癌中表达下调, 且阴性表达DYRK2的患者预后不良. Taira等最新研究也发现DYRK2在多种人类肿瘤组织中表达下调, 且下调DYRK2的表达能促进肿瘤细胞生长.

光度(*A*)值, 并计算出RNA的纯度和浓度. 以2 μg总RNA为模板, 按cDNA第一链合成逆转录试剂盒ReverTra Ace® qPCR RT kit说明书二步法合成cDNA, 产物保存于-80 ℃.

1.2.2 实时荧光定量PCR检测mRNA的表达: 按SYBR® Green Real time PCR Master Mix说明书在预热的ABI7300荧光定量PCR仪上进行检测. 预变性95 ℃ 3 min, 变性95 ℃ 15 s, 退火延伸60 ℃ 1 min, 在60 ℃读取数据; 共40次循环. DYRK2上游引物序列为5'-CAGATGACAGATGCCAATGGGAATA-3', 下游引物序列为5'-TTGAGCAAATAAAAACAGGTCTGAGC-3'. GAPDH上游引物序列为5'-GGGTGTGAACCATGAGAAGT-3', 下游引物序列为5'-GGCATGGACTGTGGTCATGA-3'. 以上反应设置3个复孔. 每管中荧光信号达到设定阈值时所经历的循环数即Ct值, 每个样本目的基因的循环阈值与内参基因(*GAPDH*)循环阈值的差异为ΔCt, 实验样本与对照样本(正常胰腺组织)ΔCt的差异为ΔΔCT. 以$2^{-\Delta\Delta Ct}$表示基因的相对表达量.

1.2.3 Western blot检测目的蛋白的表达: 用RIPA裂解液(碧云天)提取组织总蛋白, BCA法蛋白浓度检测试剂盒(碧云天)测定蛋白浓度. 以30 μg蛋白/泳道上样, 12%SDS-PAGE凝胶进行电泳分离, 120 V恒压电泳至溴酚蓝迁移到分离胶底部, 300 mA恒流1 h将蛋白转移至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜; 将膜置于5%的脱脂奶粉中室温振荡封闭2 h, 然后加入DYRK2一抗(1∶200)和β-actin一抗(1∶1000)分别于杂交袋中4 ℃孵育过夜; 次日用TBS-T洗膜15 min/次×3次, 室温孵育二抗(1∶3000)1 h; TBS-T洗膜10 min/次×3次; 之后采用增强化学发光(ECL)试剂(美国Pierce公司)于暗室中进行显影、曝光. 结果扫描后, 用图像分析软件Quantity One进行灰度分析; 以目的蛋白与内参照蛋白(β-actin)的相对表达量, 即目的蛋白与内参照蛋白的比值进行半定量分析.

1.2.4 免疫组织化学检测目的蛋白的表达: 全部标本均用中性福尔马林溶液固定, 常规脱水、包埋、连续4 μm厚切片. DYRK2一抗的工作浓度为1∶50. 操作步骤按即用型免疫组织化学SABC检测试剂盒说明书进行. 用已知阳性的胰腺癌切片作为阳性对照, 用PBS代替一抗作为阴性对照. 免疫组织化学染色由两位高年资病理科医师在双盲条件下进行观察, 判定标准参照文献[7]. 每张切片随机观察10个高倍视野读取阳性细胞数. 根据细胞阳性百分数的多少及阳性细胞染色程度进行分级: 无细胞染色或胞浆淡染且阳性细胞比例<10%记为0; 胞浆淡染且阳性细胞比例>10%记为+; 胞浆中度染色且细胞比例>10%记为++; 胞浆强阳性染色且比例>10%记为+++. 结果判定: 0或1+染色强度判定为阴性, ++或+++染色强度判定为阳性.

统计学处理 应用SPSS16.0统计软件进行统计分析. DYRK2阳性表达率和临床病理资料之间的相关性分析采用χ^2检验; 两个样本均数间比较用Student's *t*检验. $P<0.05$表示差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 DYRK2 mRNA在胰腺癌及其癌旁组织中的表达 实时荧光定量PCR检测结果显示, DYRK2 mRNA在癌及癌旁组织中均有表达, 但18对组织中有15对(83.3%)癌旁组织的DYRK2 mRNA表达水平高于其对应的癌组织(图1A). 以癌组织和癌旁组织的均值作盒须图, 癌组织(白色)与癌旁组织(黑色)的DYRK2 mRNA表达水平有统计学意义($P<0.01$, 图1B).

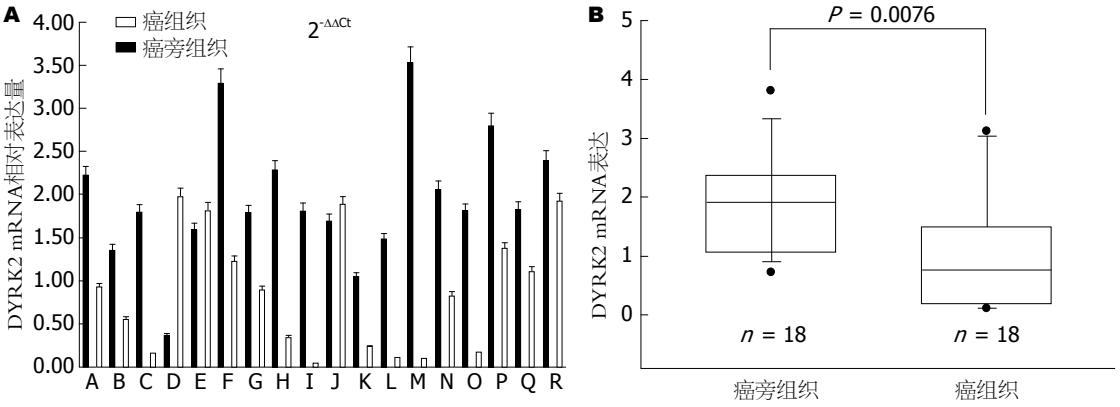
2.2 Western blot检测结果 在18对胰腺癌组织中有16对(88.9%)癌旁组织的DYRK2蛋白(59 kDa)表达量高于其对应的癌组织, 差异有统计学意义($P<0.01$, 图2).

2.3 DYRK2蛋白在胰腺癌及其癌旁组织中的表达 DYRK2在所有癌旁及大部分癌组织中均有表达, 主要定位于胞浆, 呈淡黄色或棕黄色弥漫性分布(图3). 40例胰腺癌组织中DYRK2蛋白阳性表达率为42.5%(17/40), 而其对应的癌旁组织中DYRK2蛋白阳性表达率为87.5%(35/40), 差异有统计学意义($\chi^2 = 17.802$, $P<0.01$).

2.4 DYRK2蛋白表达与胰腺癌临床病理特征之间的关系 经统计学分析发现, DYRK2蛋白的表达与患者的淋巴结转移情况相关($\chi^2 = 6.32$, $P = 0.042$, 表1); 而与年龄、性别、肿瘤部位、肿瘤大小、肿瘤范围、远处转移情况以及分化程度无关.

3 讨论

近年来, 胰腺癌的发病率在国内外均呈明显上升趋势, 但关于其诊治的进展却十分缓慢. 胰腺癌起病隐匿且发展快、手术切除率低、术后易复发转移是导致其诊疗困难的主要原因. 然而目前大量研究表明, 胰腺癌的多种恶性生物学行为可能是由其中一小部分被称为肿瘤干细胞



■创新盘点

关于DYRK2在胰腺癌组织中的表达及其与临床病理特征之间的关系研究尚未见报道, 本实验探讨了DYRK2在胰腺癌组织中的表达特点及其可能的临床意义.

图 1 实时荧光定量PCR检测DYRK2 mRNA在胰腺癌和癌旁组织中的表达. A: DYRK2 mRNA相对表达量; B: DYRK2 mRNA表达. DYRK2: 双特异性酪氨酸磷酸化调节激酶2.

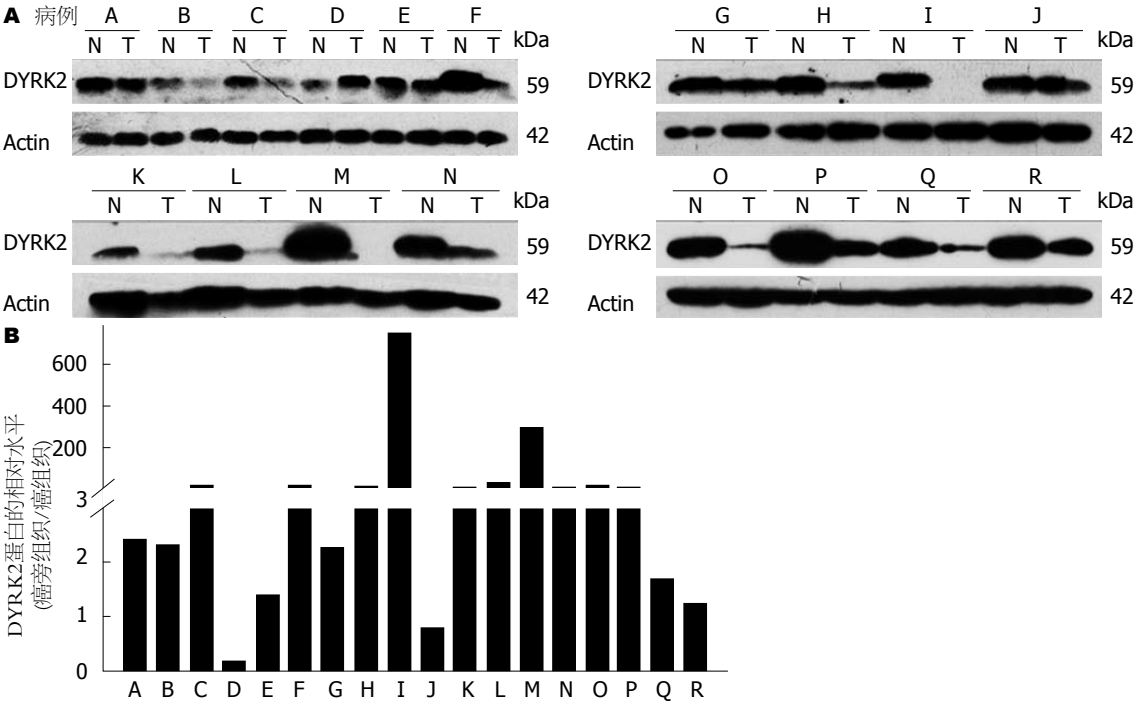


图 2 Western blot检测DYRK2蛋白在胰腺癌和癌旁组织中的表达. A: 18对胰腺癌和癌旁组织中DYRK2蛋白的表达, T: 癌组织; N: 癌旁组织; B: 18对癌旁组织对于自身癌组织DYRK2蛋白的相对表达量水平. DYRK2: 双特异性酪氨酸磷酸化调节激酶2.

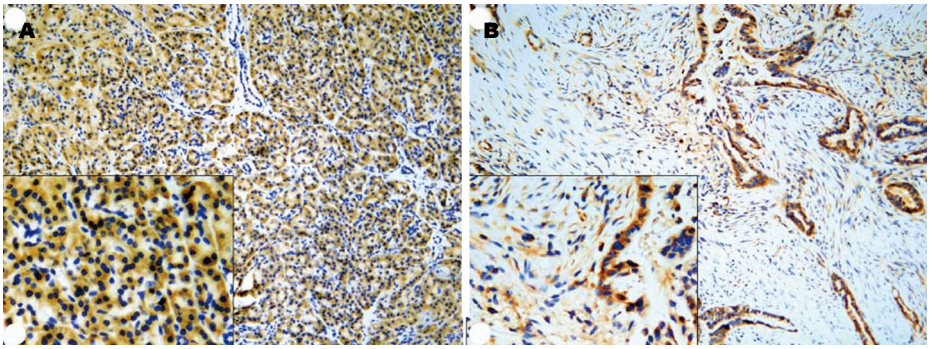


图 3 免疫组织化学检测DYRK2蛋白在胰腺癌和癌旁组织中的表达(SABC, ×100). A: 癌旁组织; B: 癌组织. DYRK2: 双特异性酪氨酸磷酸化调节激酶2.

的特殊亚群所决定. 该亚群细胞具有高致瘤能力、耐受放化疗以及自我更新和分化的潜能, 与胰腺癌的恶性生长及复发转移等特性密切相关[8,9]. 因此, 进一步阐明胰腺癌干细胞的分子生物学机制, 并寻找新的诊疗方法成为提高胰腺癌治疗效果的关键[10].

■应用要点
DYRK2是Hedgehog旁路信号中的主要调控分子, 对其深入研究有助于进一步理解胰腺癌恶性生物学行为的分子机制, 并为胰腺癌的早期诊断及治疗提供重要帮助.

表 1 DYRK2蛋白表达与胰腺癌临床病理特征之间的关系 (*n*)

临床资料	*n*	DYRK2蛋白表达		χ^2值	*P*值
		阳性	阴性		
n		17	23		
年龄(岁)				0.03	0.98
≤60	30	13	17		
>60	10	4	6		
性别				0.47	0.79
男	19	7	12		
女	21	10	11		
肿瘤部位				0.01	1.00
胰头	28	12	16		
胰体尾	12	5	7		
肿瘤大小(cm)				0.00	1.00
<4	26	11	15		
≥4	14	6	8		
肿瘤范围				2.82	0.24
T1–2	8	6	2		
T3–4	32	11	21		
淋巴结转移				6.32	0.04
N0	19	12	7		
N1	21	5	16		
远处转移				1.54	0.46
M0	33	16	17		
M1	7	1	6		
分化程度				2.90	0.23
高–中分化	22	12	10		
低分化	18	5	13		

Hedgehog信号通路是维持胰腺癌干细胞恶性生物学行为的关键信号通路之一[11-13]. 但目前有关Hedgehog信号通路的阻滞剂(如Cyclopamine等)均针对其上游Shh/Smo/Gli信号轴, 而对其旁路信号并无阻滞效果. 当Hedgehog信号通路上游分子Shh或Smo被阻滞后, 其还可通过激活丝裂原活化蛋白3激酶10(MAP3K10)等旁路信号, 进而降低DYRK2对效应分子Gli的阻滞作用, 使Gli持续解离并进入细胞核内发挥其生物学功能[6]. 因此, Hedgehog旁路信号的活化可能是胰腺癌干细胞逃逸cyclopamine等阻滞剂杀灭的主要原因, 而DYRK2作为Hedgehog旁路信号中的主要调控分子可能与胰腺癌恶性生物行为密切相关.

DYRK2是DYRKs家族的主要成员之一, 该激酶家族以对酪氨酸和丝氨酸/苏氨酸片段均具有磷酸化活性为主要特点[14]. 有研究表明DYRK2可能在调控细胞凋亡、DNA损伤修复和细胞周期中起重要作用[15,16], 然而关于其在肿瘤中的作用目前仅有少量文献报道. Miller等[17]报道在食管癌和肺腺癌中DYRK2的蛋白和mRNA表达水平较对应的癌旁组织升高. Park等[18]利用抗癌药物8-Cl-cAMP处理神经母细胞瘤细胞后引起DYRK2表达量下降. 而Yamashita等[7]报道DYRK2在肺腺癌中表达下调, 且阴性表达DYRK2的患者预后不良. 国内崔建国等[19]利用蛋白质组学分析发现, 在辐射诱导癌变的人支气管上皮细胞中DYRK2表达量明显下降, 这与Yamashita等的研究结果相似. Taira等[20]最新研究也发现DYRK2在多种人类肿瘤组织中表达下调, 且其在肿瘤细胞中能促进原癌基因*c-Jun*和*c-Myc*的泛素化降解, 而下调DYRK2的表达能减少c-Jun和c-Myc的降解并促进细胞增殖, 提示DYRK2在肿瘤中可能起抑制肿瘤生长的作用.

目前关于DYRK2在胰腺癌中的研究尚未见报道. 本研究结果显示, DYRK2 mRNA和蛋白在胰腺癌组织中的表达水平较其对应的癌旁组织明显减少, 提示在胰腺癌中DYRK2的活性受到抑制. 同时我们还发现, DYRK2蛋白的表达与胰腺癌淋巴结转移情况相关, 即有淋巴结转移的胰腺癌组织中DYRK2蛋白的表达水平显著低于无淋巴结转移者; 而DYRK2与其他临床病理特征之间没有显著相关性. 提示DYRK2可能是一个与胰腺癌淋巴结转移相关的指标, 在胰腺癌淋巴结转移中发挥了一定的作用.

总之, 本研究首次发现DYRK2在胰腺癌组织中表达下调, 而这可能是胰腺癌发生、发展过程中的重要分子生物学事件. 并且, DYRK2与胰腺癌的淋巴结转移情况相关, 而是否有淋巴结转移是影响胰腺癌患者预后的重要因素. 因此, DYRK2也可能成为胰腺癌的一个预后判断指标. 目前, 关于DYRK2在肿瘤中所扮演的角色还不明确, 而其在胰腺癌中的作用及详细调控机制还有待于进一步研究.

志谢: 感谢张春霞、林凡同志在本试验中给予的大力帮助.

4 参考文献

1 Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2012; 62: 10-29 [PMID: 22237781 DOI: 10.3322/caac.20138]
2 Hidalgo M. Pancreatic cancer. *N Engl J Med* 2010; 362: 1605-1617 [PMID: 20427809 DOI: 10.1056/NEJMra0901557]
3 Hidalgo M, Maitra A. The hedgehog pathway and pancreatic cancer. *N Engl J Med* 2009; 361: 2094-2096 [PMID: 19923581 DOI: 10.1056/NEJMcibr0905857]
4 Kelleher FC. Hedgehog signaling and therapeutics

in pancreatic cancer. *Carcinogenesis* 2011; 32: 445-451 [PMID: 21186299 DOI: 10.1093/carcin/bgq280]
5 Li Y, Maitah MY, Ahmad A, Kong D, Bao B, Sarkar FH. Targeting the Hedgehog signaling pathway for cancer therapy. *Expert Opin Ther Targets* 2012; 16: 49-66 [PMID: 22243133 DOI: 10.1517/14728222.2011.617367]
6 Varjosalo M, Björklund M, Cheng F, Syvänen H, Kivioja T, Kilpinen S, Sun Z, Kallioniemi O, Stunnenberg HG, He WW, Ojala P, Taipale J. Application of active and kinase-deficient kinome collection for identification of kinases regulating hedgehog signaling. *Cell* 2008; 133: 537-548 [PMID: 18455992 DOI: 10.1016/j.cell.2008.02.047]
7 Yamashita S, Chujo M, Tokuishi K, Anami K, Miyawaki M, Yamamoto S, Kawahara K. Expression of dual-specificity tyrosine-(Y)-phosphorylation-regulated kinase 2 (DYRK2) can be a favorable prognostic marker in pulmonary adenocarcinoma. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2009; 138: 1303-1308 [PMID: 19818968 DOI: 10.1016/j.jtcvs.2009.08.003]
8 Li C, Heidt DG, Dalerba P, Burant CF, Zhang L, Adsay V, Wicha M, Clarke MF, Simeone DM. Identification of pancreatic cancer stem cells. *Cancer Res* 2007; 67: 1030-1037 [PMID: 17283135]
9 Hermann PC, Huber SL, Herrler T, Aicher A, Ellwart JW, Guba M, Bruns CJ, Heeschen C. Distinct populations of cancer stem cells determine tumor growth and metastatic activity in human pancreatic cancer. *Cell Stem Cell* 2007; 1: 313-323 [PMID: 18371365 DOI: 10.1016/j.stem.2007.06.002]
10 Penchev VR, Rasheed ZA, Maitra A, Matsui W. Heterogeneity and targeting of pancreatic cancer stem cells. *Clin Cancer Res* 2012; 18: 4277-4284 [PMID: 22896694 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-3112]
11 Huang FT, Zhuan-Sun YX, Zhuang YY, Wei SL, Tang J, Chen WB, Zhang SN. Inhibition of hedgehog signaling depresses self-renewal of pancreatic cancer stem cells and reverses chemoresistance. *Int J Oncol* 2012; 41: 1707-1714 [PMID: 22923052 DOI: 10.3892/ijo.2012.1597]
12 Singh BN, Fu J, Srivastava RK, Shankar S. Hedgehog signaling antagonist GDC-0449 (Vismodegib) inhibits pancreatic cancer stem cell characteristics: molecular mechanisms. *PLoS One* 2011; 6: e27306 [PMID: 22087285 DOI: 10.1371/journal.pone.0027306]
13 Tang SN, Fu J, Nall D, Rodova M, Shankar S, Srivastava RK. Inhibition of sonic hedgehog pathway and pluripotency maintaining factors regulate human pancreatic cancer stem cell characteristics. *Int J Cancer* 2012; 131: 30-40 [PMID: 21796625 DOI: 10.1002/ijc.26323]
14 Becker W, Joost HG. Structural and functional characteristics of Dyrk, a novel subfamily of protein kinases with dual specificity. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol* 1999; 62: 1-17 [PMID: 9932450]
15 Yoshida K. Role for DYRK family kinases on regulation of apoptosis. *Biochem Pharmacol* 2008; 76: 1389-1394 [PMID: 18599021 DOI: 10.1016/j.bcp.2008.05.021]
16 Becker W. Emerging role of DYRK family protein kinases as regulators of protein stability in cell cycle control. *Cell Cycle* 2012; 11: 3389-3394 [PMID: 22918246 DOI: 10.4161/cc.21404]
17 Miller CT, Aggarwal S, Lin TK, Dagenais SL, Contreras JI, Orringer MB, Glover TW, Beer DG, Lin L. Amplification and overexpression of the dual-specificity tyrosine-(Y)-phosphorylation regulated kinase 2 (DYRK2) gene in esophageal and lung adenocarcinomas. *Cancer Res* 2003; 63: 4136-4143 [PMID: 12874018]
18 Park GH, Choe J, Choo HJ, Park YG, Sohn J, Kim MK. Genome-wide expression profiling of 8-chloroadenosine- and 8-chloro-cAMP-treated human neuroblastoma cells using radioactive human cDNA microarray. *Exp Mol Med* 2002; 34: 184-193 [PMID: 12216110]
19 崔建国, 蔡建明, 高福, 李百龙. 利用蛋白质组学技术筛选辐射致癌相关蛋白质. 癌症杂志 2007; 26: 1157-1163
20 Taira N, Mimoto R, Kurata M, Yamaguchi T, Kitagawa M, Miki Y, Yoshida K. DYRK2 priming phosphorylation of c-Jun and c-Myc modulates cell cycle progression in human cancer cells. *J Clin Invest* 2012; 122: 859-872 [PMID: 22307329 DOI: 10.1172/JCI60818]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

■同行评价

本文研究DYRK2在胰腺癌临床患者标本中转录和表达情况, 并发现其与淋巴转移间存在联系, 创新性较好, 具有很高的潜在临床价值.

世界华人消化杂志 2013年5月28日; 21(15): 1448-1452
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

单气囊小肠镜在空回肠憩室出血中的诊治价值

陈念钧, 孟晓岩, 侯 伟, 王 渝, 黎培员, 谢华平

■背景资料
空回肠憩室出血, 临床上常存在诊断困难, 如不及时诊断, 常常导致反复出血, 甚至威胁患者生命; 反之, 如能及时发现出血部位, 空回肠憩室出血常常能达到根治效果. 气囊小肠镜发现以来, 使得空回肠憩室出血及时诊断成为可能.

陈念钧, 侯伟, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内镜中心 湖北省武汉市 430030
孟晓岩, 华中科技大学同济医学院附属同济医院放射科 湖北省武汉市 430030
王渝, 华中科技大学同济医学院附属同济医院病理科 湖北省武汉市 430030
黎培员, 谢华平, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科 湖北省武汉市 430030
陈念钧, 主要从事消化系内镜诊断与治疗等工作.
作者贡献分布: 本研究由谢华平设计; 单气囊小肠镜操作由谢华平、黎培员、陈念钧及侯伟完成; 小肠多排CT仿真成像核实由孟晓岩完成; 资料收集与整理由谢华平与陈念钧完成; 病理核实由王渝完成; 本论文由谢华平与陈念钧完成.
通讯作者: 谢华平, 主治医师, 430030, 湖北省武汉市解放大道1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科. hpxie@tjh.tjmu.edu.cn
收稿日期: 2013-03-18 修回日期: 2013-04-13
接受日期: 2013-04-18 在线出版日期: 2013-05-28

Value of single balloon endoscopy in the diagnosis and treatment of jejunoileal diverticular hemorrhage

Nian-Jun Chen, Xiao-Yan Meng, Wei Hou, Yu Wang, Pei-Yuan Li, Hua-Ping Xie

Nian-Jun Chen, Wei Hou, Digestive Endoscopy Center, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China
Xiao-Yan Meng, Department of Radiology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China
Yu Wang, Department of Pathology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China
Pei-Yuan Li, Hua-Ping Xie, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China
Correspondence to: Hua-Ping Xie, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China. hpxie@tjh.tjmu.edu.cn
Received: 2013-03-18 Revised: 2013-04-13
Accepted: 2013-04-18 Published online: 2013-05-28

Abstract

AIM: To evaluate the value of single balloon endoscopy in the diagnosis and treatment of jejunoileal diverticular hemorrhage.

METHODS: This retrospective review was carried out on patients who received single balloon endoscopy from February 2009 to January 2013 at Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology.

RESULTS: Seven patients, including one case of jejunal diverticulum and six cases of ileal diverticula, were diagnosed with jejunoileal diverticular hemorrhage by single balloon endoscopy. Besides the diagnosis, single balloon endoscopy also found possible diverticular lesions resulting in bleeding, such as inflammation or ulcer inside the diverticula. Four cases of ileal diverticular hemorrhage were cured by diverticulectomy, without recurrence in the following periods. Diverticular positions determined by surgery were consistent with the findings by single balloon endoscopy. One of five patients examined by multiple row computer tomography of the small intestine was found positive for diverticulum, while one of two patients checked by small bowel barium meal and one of two patients checked by abnormal gastric mucosa radionuclide imaging were found positive.

CONCLUSION: Single balloon endoscopy can help not only efficiently diagnose jejunoileal diverticula but also detect possible diverticular lesions and determine possible positions.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Hemorrhage; Small intestine; Single balloon endoscopy; Jejunoileal diverticula

Chen NJ, Meng XY, Hou W, Wang Y, Li PY, Xie HP. Value of single balloon endoscopy in the diagnosis and treatment of jejunoileal diverticular hemorrhage. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(15): 1448-1452 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1448.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i15.1448

摘要

目的: 探讨单气囊小肠镜在空回肠憩室出血中的诊治价值.

方法: 回顾性分析华中科技大学同济医学院附属同济医院2009-02/2013-01所有单气囊小

■同行评议者
沈薇,教授, 重庆医科大学附属第二医院消化内科

肠镜检查患者病历资料.

结果: 单气囊小肠镜确诊7例空回肠憩室, 包括6例回肠憩室及1例空肠多发憩室. 单气囊小肠镜不仅能确诊憩室, 还能发现憩室出血的可能因素, 包括憩室口炎症、溃疡形成. 4例回肠憩室患者憩室切除手术治愈, 术中憩室位置与单气囊小肠镜确定憩室位置一致, 随访无复发. 5例憩室术前接受小肠多排CT仿真内窥, 1例发现憩室可能征象; 2例行异位胃粘膜核素显像或小肠钡餐患者, 各有1例阳性发现.

结论: 单气囊小肠镜不仅能有效发现憩室, 还能明确憩室出血原因及憩室准确位置, 为外科手术提供可靠依据.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 小肠出血; 单气囊小肠镜; 空回肠憩室

核心提示: 单气囊小肠镜, 不仅能明确憩室的存在, 还能判断憩室是否引起出血以及大致部位, 为空回肠憩室外科手术治疗提供依据与参考, 在空回肠憩室出血诊治中具有重要意义.

陈念钧, 孟晓岩, 侯伟, 王渝, 黎培员, 谢华平. 单气囊小肠镜在空回肠憩室出血中的诊治价值. 世界华人消化杂志 2013; 21(15): 1448-1452 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1448.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i15.1448

0 引言

不明原因消化系出血, 约占消化系出血的5%, 出血部位多位于空回肠时, 临床上诊断困难[1]. 除血管畸形、肿瘤以及炎症性改变外, 空回肠憩室是小肠出血原因之一. 空回肠憩室出血, 手术前明确诊断率仅为25%, 少数情况下甚至导致患者死亡[2]. 随着内镜技术, 特别是双/单气囊小肠镜的发展, 使得空回肠憩室出血及时诊断成为可能[3,4]. 本文回顾性分析华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内镜中心2009-02/2013-01单气囊小肠镜确诊的7例空回肠憩室出血患者, 结合文献探讨单气囊小肠镜在空回肠憩室出血中的诊治价值.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2009-02/2013-01华中科技大学同济医学院附属同济医院172例单气囊小肠镜检查患者资料. 其中男106例, 女66例; 年龄11-82岁, 平均42.6岁. 共发现空回肠憩室出血病例7例. 使用Olympus公司的SIF-Q260单气囊小肠镜, 组成部分包括气泵、主机、内镜及外套管, 内镜长度200 cm, 外套管长度145 cm.

1.2 方法

1.2.1 术前准备: 检查前禁食12 h, 并于检查前口服聚乙二醇电解质清洁肠道.

1.2.2 单气囊小肠镜检查: 在静脉全身麻醉下进行小肠镜检查, 全程心电监护及氧饱和度监测. 先经口进镜. 如未能发现病变, 内镜抵达相应部位后, 黏膜下注射美兰标记, 继续经肛进镜检查.

1.2.3 病变位置描述: 退镜时, 根据外套管及镜身的刻度标尺, 测量每次退镜的距离, 最后总和得出病变与回盲部或者幽门口距离.

1.2.4 其他检查方法: 小肠CT为64排CT薄层扫描后, 经计算机进行三维成像, 形成小肠仿真内窥图像进行分析. 肠系按照常规的吞钡检查后X线拍片观察. SPECT异位胃黏膜显像采取^{99}mTcO4标记后进行核素检查.

2 结果

共发现7例小肠憩室, 其中男6例, 女1例; 年龄15-48岁, 平均28岁; 回肠憩室6例, 多发空肠憩室1例; 以黑便为主3例, 解暗红色血便为主4例; 病程最短半月, 最长达10年; 单个病例出血1-5次(表1). 最低血色素水平在57-82 g/L之间. 单小肠镜除诊断憩室(图1A, C, E, G, I, K)外, 并发现憩室出血的可能因素, 包括憩室炎症、溃疡形成(图1B, D, F, H J, L). 4例回肠憩室患者接受手术治疗, 手术治愈, 随访无复发; 手术中确定憩室位置与单气囊小肠镜测量的憩室位置大致相同(表1). 5例行小肠多排CT筛查, 1例有阳性发现; 2例行异位胃粘膜核素显像, 1例有阳性发现; 2例行小肠钡餐检查, 1例发现憩室征象(表1).

3 讨论

小肠憩室发生于1%-5%人群, 绝大多数并没有明显症状, 仅有10%的患者产生临床表现[5]. 在这些临床症状中, 消化系出血位于第2位, 发生率在3.1%-29.5%, 空回肠憩室(包括Meckel憩室)总计占小肠憩室的55%[2,6,7]. 按上述数据计算, 空回肠憩室出血发病率保守估计在1.6/100000. 小肠憩室出血可导致消化系大出血, 如果不及时诊断及手术治疗, 死亡率将明显增加[6]; 反之, 常常能及时治愈而不再复发[8]. 本组4例接受手术治疗的患者, 病程最长的达到10年, 手术治愈, 手术后随访未再复发.

小肠镜能直观发现小肠病变, 使得小肠憩

■研发前沿
自双/单气囊小肠镜发现以来, 小肠疾病诊治有很大进展. 除血管畸形、肿瘤、炎症性肠病以外, 空回肠憩室出血是小肠出血另外一重要因素. 根据流行病学治疗推算, 空回肠憩室出血发病率在1.6/100000左右, 如何有效利用气囊小肠镜发现空回肠憩室出血, 明确出血部位及原因, 为手术治疗提供依据, 是目前难点之一.

■相关报道
时强等利用单气囊小肠镜170例次进行单气囊小肠镜检查, 49例出血患者中, 仅有1例憩室出血, 这与憩室出血约占空回肠出血比例(约9.7%)不符, 检出率偏低.

■创新盘点

单气囊小肠镜在诊断空回肠憩室出血时，不仅能判断出血是否由于憩室内病变(例如炎症或溃疡)所致，还能大致准确判断憩室部位，指导外科手术进行.

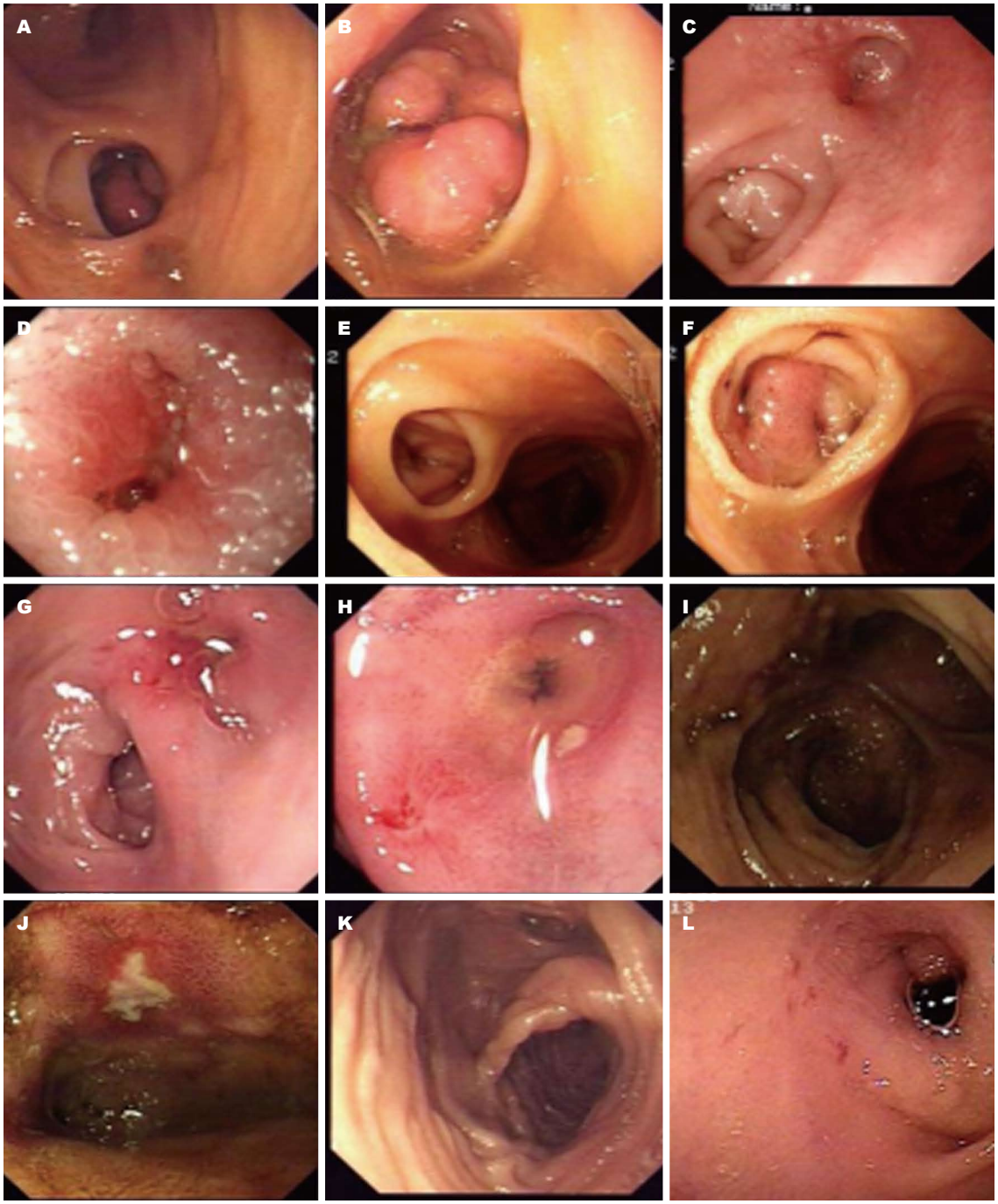


图 1 7例空回肠憩室出血患者单气囊小肠镜检查结果. A, B: 例1; C, D: 例2; E, F: 例3; G, H: 例4; I, J: 例5; K: 例6; L: 例7.

室及时诊断成为可能[9-11]. 我们研究表明，单气囊小肠镜能准确发现憩室存在，在内镜下可看到典型的憩室结构. 不仅如此，还能判断出血是否由憩室所致，例如可以观察到憩室炎症或者憩室内溃疡形成. 尤其值得注意的是，在退镜过程中通过计算内镜行走距离，能大致准确判断憩室位置，指导外科医生手术进行. López Albors等[12]利用实验猪进行研究，采取两种方法评估内镜与幽门距离：一是以每次进镜和退镜作为一个周期，计算每个周期镜身插入距离；二是在退镜过程中评估镜身所退的距离. 两种方法均十分有效并没有统计学差异. 考虑到每个进镜及退镜周期中测量需要花费较多时间和精力，影响检查过程中的仔细观察和可能延长检查时间，推荐使用退镜过程中测量镜身所进入深度来判断病变的位置.

与传统检查方法相比，例如小肠钡餐、Meckel憩室核素显像、血管造影，单气囊小肠镜有着明显优势[4]. 小肠钡餐检查可以发现憩室，但诊断率仅在10%-26.1%[2,13]. 另外一个值得期

表 1 7例空回肠憩室出血患者临床资料

	性别	年龄(岁)	临床表现及出血次数	小肠镜	钡餐	SPECT	小肠CT	手术	手术后病理	随访
例1	女	15	间断黑便1年; 出血2次	回肠距回盲瓣约90 cm见憩室, 憩室腔内见似新生物样生长环行异位黏膜	/	/	子宫体前方部分回肠管壁不均匀增厚, 门脉期强化明显	回肠距回盲部约90 cm见憩室, 大小约6 cmx3 cm	小肠憩室	随访2 mo, 未再出血
例2	男	31	间断暗红色血便3 mo; 出血2次	回肠距回盲瓣约138 cm见憩室, 憩室口溃疡形成	/	/	/	回肠距回盲部约135 cm见憩室, 大小约2 cmx2 cm	小肠憩室	随访2 mo, 未再出血
例3	男	27	间断黑便7年; 出血3次	回肠距回盲瓣约45 cm憩室, 基底及周边可见溃疡形成	/	脐左下异常胃黏膜显像	未见异常	回肠距回盲部约40 cm见憩室, 大小约2 cmx3 cm	小肠憩室	随访8 mo, 未再出血
例4	男	32	间断暗红色血便10年; 出血5次	回肠距回盲部约120 cm见憩室, 基底线样溃疡形成, 上覆黑色血痂样	/	/	/	/	/	随访9 mo, 出血一次
例5	男	15	暗红色血便2天; 出血1次	回肠距回盲瓣约95 cm见憩室, 憩室内内散在溃疡	回肠憩室征象	未见异常	未见异常	回肠距回盲部约90 cm见憩室, 大小约2 cmx3 cm	小肠憩室	随访24 mo, 未再出血
例6	男	48	暗红色血便半月; 出血1次	空肠距幽门口约80 cm内可见5处憩室	/	/	未见异常	/	/	随访5 mo, 暂未出血
例7	男	18	间断黑便3年; 出血3次	回肠距回盲部约100 cm处见憩室, 憩室入口处溃疡形成	未见异常	/	未见异常		/	随访6 mo, 暂未出血

■应用要点

单气囊小肠镜, 在不明原因消化系出血, 特别是各种传统检查方法(包括小肠钡餐、小肠多排CT成像、异位胃粘膜SPECT显像)以及胶囊内镜检查阴性时有重要价值, 可能发现潜在的空回肠憩室出血.

待的小肠检测手段-胶囊内镜, 虽在空回肠出血诊断中有重要价值, 但对憩室的诊断缺乏灵敏性. Marmo等[9]对193例不明原因消化道出血患者进行胶囊内镜检查, 没有发现空、回肠憩室存在, 而在34例胶囊内镜提示有血性液体存在的病例中, 5例患者经双气囊小肠镜检查发现憩室的存在. Arakawa等[10]对162例患者进行胶囊内镜和双气囊小肠镜检查, 胶囊内镜检查阴性而双气囊检查阳性的原因之一就是胶囊内镜无法准确发现憩室的存在. 这些均说明胶囊内镜并非空回肠憩室筛查有效方法. 小肠多排CT成像可显示空回肠憩室, 后者表现为含气和/或粪样物的包块、受累肠壁增厚和肠壁周围组织水肿[14,15]. 遗憾的是, 本研究中5例空回肠憩室出血患者, 小肠多排CT检查仅1例有阳性发现, 提示小肠多排CT对憩室筛查缺乏敏感性.

总之, 空回肠憩室出血患者, 如果能及时明确出血部位, 可以达到完全治愈的效果. 与其他检查方法相比, 单气囊小肠镜能直观发现憩室存在, 判断憩室内是否存在引起活动性出血内镜改变, 如憩室炎症、溃疡等, 为外科手术提供依据及憩室部位, 在空回肠憩室出血诊治中具有重要价值.

4 参考文献

1 Cellier C. Obscure gastrointestinal bleeding: role of videocapsule and double-balloon enteroscopy. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2008; 22: 329-340 [PMID: 18346687 DOI: 10.1016/j.bpg.2007.12.006]

2 Chiu EJ, Shyr YM, Su CH, Wu CW, Lui WY. Diverticular disease of the small bowel. *Hepatogastroenterology* 2000; 47: 181-184 [PMID: 10690606]

3 Upchurch BR, Sanaka MR, Lopez AR, Vargo JJ. The clinical utility of single-balloon enteroscopy: a single-center experience of 172 procedures. *Gastrointest Endosc* 2010; 71: 1218-1223 [PMID: 20409544 DOI: 10.1016/j.gie.2010.01.012]

4 Suzuki T, Matsushima M, Okita I, Ito H, Gocho S, Tajima H, Tokiwa K, Teraoka H, Watanabe K, Shirai T, Mine T. Clinical utility of double-balloon enteroscopy for small intestinal bleeding. *Dig Dis Sci*

■同行评价
空回肠憩室是小肠出血的重要原因之一, 临床诊断困难, 本文显示小肠镜检查对临床不明原因消化道出血的诊断具有重要意义.

2007; 52: 1914-1918 [PMID: 17410439 DOI: 10.1007/s10620-007-9749-9]
5 Albert JG, Lübbert C, Surow A, Zeuzem S. [Small bowel diverticula - unknown disease]. *Z Gastroenterol* 2009; 47: 674-681 [PMID: 19606411 DOI: 10.1055/s-0028-1109384]
6 Palder SB, Frey CB. Jejunal diverticulosis. *Arch Surg* 1988; 123: 889-894 [PMID: 3132909 DOI: 10.1001/archsurg.1988.01400310103018]
7 Tsiotos GG, Farnell MB, Ilstrup DM. Nonmeckelian jejunal or ileal diverticulosis: an analysis of 112 cases. *Surgery* 1994; 116: 726-731; discussion 731-732 [PMID: 7940172]
8 Tan KK, Liu JZ, Ho CK. Emergency surgery for jejunal diverticulosis: our experience and review of literature. *ANZ J Surg* 2011; 81: 358-361 [PMID: 21518186 DOI: 10.1111/j.1445-2197.2010.05480.x]
9 Marmo R, Rotondano G, Casetti T, Manes G, Chilovi F, Sprujevnik T, Bianco MA, Brancaccio ML, Imbesi V, Benvenuti S, Pennazio M. Degree of concordance between double-balloon enteroscopy and capsule endoscopy in obscure gastrointestinal bleeding: a multicenter study. *Endoscopy* 2009; 41: 587-592 [PMID: 19588285 DOI: 10.1055/s-0029-1214896]
10 Arakawa D, Ohmiya N, Nakamura M, Honda W, Shirai O, Itoh A, Hirooka Y, Niwa Y, Maeda O, Ando T, Goto H. Outcome after enteroscopy for patients with obscure GI bleeding: diagnostic comparison between double-balloon endoscopy and videocapsule endoscopy. *Gastrointest Endosc* 2009; 69: 866-874 [PMID: 19136098 DOI: 10.1016/j.gie.2008.06.008]
11 Ohmiya N, Yano T, Yamamoto H, Arakawa D, Nakamura M, Honda W, Itoh A, Hirooka Y, Niwa Y, Maeda O, Ando T, Yao T, Matsui T, Iida M, Tanaka S, Chiba T, Sakamoto C, Sugano K, Goto H. Diagnosis and treatment of obscure GI bleeding at double balloon endoscopy. *Gastrointest Endosc* 2007; 66: S72-S77 [PMID: 17709039 DOI: 10.1016/j.gie.2007.05.041]
12 López Albors O, Soria F, Pérez Cuadrado E, Morcillo E, Martín C, Carballo LF, Latorre R. Validity of insertion depth measurement in double-balloon endoscopy. *Endoscopy* 2012; 44: 1045-1050 [PMID: 22930174 DOI: 10.1055/s-0032-1310106]
13 Bach AG, Lübbert C, Behrmann C, Surov A. [Small bowel diverticula – diagnosis and complications]. *Dtsch Med Wochenschr* 2011; 136: 140-144 [PMID: 21246470 DOI: 10.1055/s-0031-1272497]
14 Coulier B, Maldague P, Bourgeois A, Broze B. Diverticulitis of the small bowel: CT diagnosis. *Abdom Imaging* 2007; 32: 228-233 [PMID: 16967251 DOI: 10.1007/s00261-006-9045-8]
15 Macari M, Faust M, Liang H, Pachter HL. CT of jejunal diverticulitis: imaging findings, differential diagnosis, and clinical management. *Clin Radiol* 2007; 62: 73-77 [PMID: 17145267 DOI: 10.1016/j.crad.2006.09.014]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2013年5月28日; 21(15): 1453-1457
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

低剂量英夫利昔单抗不同给药次数治疗激素抵抗型溃疡性结肠炎

高 净, 江学良

高净, 江学良, 中国人民解放军济南军区总医院消化科 山东省济南市 250031
高净, 在读研究生, 主要从事炎症性肠病的研究.
北京医学奖励基金资助项目, No. XHYSJNJQZ-002
作者贡献分布: 此课题由江学良与高净设计; 病例选择、临床资料整理、数据分析及文章起草由高净完成; 课题设计、文章修改及审阅由江学良完成.
通讯作者: 江学良, 教授, 主任医师, 250031, 山东省济南市师范路25号, 中国人民解放军济南军区总医院消化科.
jiangxueliang678@126.com
收稿日期: 2013-03-15 修回日期: 2013-04-04
接受日期: 2013-04-12 在线出版日期: 2013-05-28

Low-dose infliximab for corticosteroid-refractory ulcerative colitis: Impact of number of infusions on efficacy and safety

Jing Gao, Xue-Liang Jiang

Jing Gao, Xue-Liang Jiang, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China
Correspondence to: Xue-Liang Jiang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military, Command of Chinese PLA, 25 Shifan Road, Jinan 250031, Shandong Province, China. jiangxueliang678@126.com
Received: 2013-03-15 Revised: 2013-04-04
Accepted: 2013-04-12 Published online: 2013-05-28

Abstract

AIM: To assess the impact of number of infusions on efficacy and safety of low-dose infliximab in management of corticosteroid-refractory ulcerative colitis.

METHODS: Forty-one patients with corticosteroid-refractory ulcerative colitis were randomized into two groups: A (n = 20) and B (n = 21). The baseline characteristics of patients were similar between the two groups. Group A was treated with infliximab (3.5 mg/kg) at weeks 0 and 2, while group B was treated at weeks 0, 2 and 6. The mean duration was 4 wk. Corticosteroids and 5-aminosalicylates were maintained and gradually stopped after infliximab treatment. Clinical effect [clinical response, clinical remission, colonoscopic remission, Mayo score, erythrocyte sedimentation rate (ESR), C-Reactive protein (CRP), stool frequency] and safety were observed at 8 wk.

RESULTS: The clinical response rate, clinical remission rate and colonoscopic remission rate showed no significant differences between the two groups (70% *vs* 76%, 50% *vs* 52%, 55% *vs* 57%, all $P < 0.05$). The Mayo score, ESR, CRP and stool frequency decreased in both groups at 8 wk (all $P < 0.05$). Clinical response, clinical remission and colonoscopic remission were achieved in 30 (73%), 21 (51%), and 23 (56%) cases. Sixteen patients discontinued corticosteroid, and 14 patients were decreasing the dose of corticosteroid. Only 1 patient developed infusion reaction in the third therapy.

CONCLUSION: Low-dose infliximab (3.5 mg/kg) is effective and safe in management of Chinese patients with corticosteroid-refractory ulcerative colitis. The clinical response and remission rate are similar at 8 wk after the second therapy or the third therapy.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Ulcerative colitis; Infliximab; Corticosteroid-refractory

Gao J, Jiang XL. Low-dose infliximab for corticosteroid-refractory ulcerative colitis: Impact of number of infusions on efficacy and safety. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(15): 1453-1457 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1453.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i15.1453

摘要

目的: 观察低剂量(3.5 mg/kg)英夫利昔单抗(infliximab, IFX)不同给药次数治疗激素抵抗型溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)的有效性及安全性.

方法: 将41例激素抵抗型UC患者依据IFX不同给药次数随机分为A、B两组, A组20例, B组21例, 两组患者基线期临床特征基本相似. A组患者在第0、2周接受IFX(商品名: 类克,

■背景资料
溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种慢性非特异性炎症性肠道疾病, 其发病机制尚未完全阐明, 治疗缺乏特异性. 近十年, 英夫利昔单抗(infliximab, IFX)应用于该病的治疗,并取得了显著疗效. 国内对IFX的有效性、安全性、剂量、应用方法等研究较少.

■同行评议者
高英堂, 研究员, 天津第三中心医院; 彭宗根, 研究员, 中国医学科学院医药生物技术研究所病毒室

■研发前沿
IFX在许多欧美国家已广泛应用于UC患者的治疗，但具体作用机制尚未完全阐明，其应答预测因素也需进一步探究，IFX的应用剂量及应用次数等问题仍在探讨.

100 mg/瓶)3.5 mg/kg静滴治疗2次，B组患者在第0、2、6周接受3次相同剂量的IFX治疗. 在开始IFX治疗时患者继续原来糖皮质激素及氨基水杨酸制剂治疗，等取得临床缓解后将糖皮质激素逐步减量. 观察第8周所有患者临床应答、临床缓解情况、内镜下黏膜愈合情况、糖皮质激素减量情况、Mayo评分、血沉、C-反应蛋白、大便次数及不良事件.

结果：治疗后第8周，两组患者有效性观察：A组患者临床应答率为70%，临床缓解率为50%，内镜下黏膜愈合率为55%，Mayo评分、血沉、C-反应蛋白、大便次数与治疗前相比均明显降低(P<0.05). B组患者临床应答率为76%，临床缓解率为52%，内镜下黏膜愈合率为57%，Mayo评分、血沉、C-反应蛋白、大便次数与治疗前相比均明显降低(P<0.05). A、B两组患者临床应答率、临床缓解率及内镜下黏膜愈合率均无明显差异(P>0.05)，两组患者治疗后的Mayo评分、血沉、C-反应蛋白、大便次数均无明显差别(P>0.05). A、B两组所有患者临床应答率为73%，临床缓解率为51%，内镜下黏膜愈合率为56%. 16例患者停用糖皮质激素，14例患者减量. 不良事件：随访至第8周，仅有1例患者在第3次静滴IFX过程中出现皮肤瘙痒等轻微输注反应，给予停止治疗及醋酸地塞米松注射液等抗过敏处理后症状很快消失. 未出现其他不良事件.

结论：低剂量IFX(3.5 mg/kg)对激素抵抗型UC患者在8 wk内是有效、安全的. 2次和3次IFX治疗后的患者获得临床应答率、临床缓解率及内镜下黏膜愈合率在第8周无明显差异.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词：溃疡性结肠炎；英夫利昔单抗；激素抵抗型

核心提示：低剂量英夫利昔单抗(infliximab, IFX)(3.5 mg/kg)对激素抵抗型溃疡性结肠炎(ulcerative colitis)患者在8 wk内是有效、安全的. 2次和3次IFX治疗后的患者获得临床应答率、临床缓解率及内镜下黏膜愈合率在第8周无明显差异.

高净，江学良. 低剂量英夫利昔单抗不同给药次数治疗激素抵抗型溃疡性结肠炎. 世界华人消化杂志 2013; 21(15): 1453-1457
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1453.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i15.1453

■相关报道
经典的活动性溃疡性结肠炎试验1和2(active ulcerative colitis trials 1 and 2, ACT-1和ACT-2)发现，在第8、26周，5 mg/kg的IFX治疗组与10 mg/kg的IFX治疗组患者临床疗效无明显差异.

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种慢性非特异性炎症性肠道疾病，治疗缺乏特异性，导致病情反复、迁延，并发症增多，特别是激素依赖或者抵抗的患者治疗效果不理想[1]. 近年来，国内外应用英夫利昔单抗(infliximab, IFX)治疗该病取得了一定疗效[2,3]，但仍有一定的不良反应. 我国目前对IFX有效性、安全性、剂量及应用方法等相关报道较少. 本文首次尝试给予低剂量(3.5 mg/kg)IFX治疗激素抵抗型溃疡性结肠炎患者，通过合理的设计，仔细的观察，深入而恰当的分析，证实IFX低剂量、不同给药次数治疗激素抵抗型UC的临床疗效，为探索诱导UC患者临床应答及缓解的IFX的有效剂量及治疗次数提供了临床参考依据.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2008-12/2012-12来济南军区总医院消化科就诊的明确诊断为激素抵抗型UC患者41例(均符合2012年中华消化学会炎症性肠病协作组制定的诊断标准[4]. 其中男25例，女16例，年龄18-65岁，病程6 mo-20年，平均体质量56.5 kg，累及左半结肠的12例，累及全结肠的29例，重度16例，中度25例. 纳入标准：(1)自愿作为受试对象，签署知情同意书；(2)18-65岁，女性或男性；(3)用药前1 wk肠镜及病理学检查证实的中重度活动性UC患者，Mayo评分[5]≥6分，内窥镜评分≥2分；(4)皮质激素抵抗[1]患者：指经相当泼尼松0.75 mg/(kg·d)治疗4 wk不缓解. 排除病例：(1)活动性感染、慢性感染或近期有反复感染病史，特别注意结核菌感染(包括活动性结核和潜伏结核感染)和乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染；(2)充血性心力衰竭；(3)妊娠期或儿童；(4)对鼠源蛋白成分过敏；(5)神经系统脱髓鞘病变；(6)恶性肿瘤(包括现症和既往史).

1.2 方法

1.2.1 治疗方法：将41例激素抵抗型UC患者随机分为A、B两组，A组20例，B组21例，两组患者基线期临床特征基本相似(表1). A组患者在第0、2周接受IFX(商品名：类克，100 mg/瓶)3.5 mg/kg静滴治疗，B组患者在第0、2、6周接受相同剂量的IFX治疗. 两组患者平均治疗疗程为4 wk，平均治疗次数为2.5次. 在开始IFX治疗时患者继续原来糖皮质激素及氨基水杨酸制剂治疗，等取得临床缓解后将糖皮质激素逐步减量. 随访至第8周，观察所有患者临床应答、临床缓解情

表 1 患者基线期基本特征

基本情况	A组	B组	*P*值
n	20	21	
性别: 男/女	12/8	13/8	0.90
年龄(岁)	33.9 ± 12.7	33.8 ± 15.2	0.98
病程(年)	4.2 ± 2.4	4.4 ± 2.7	0.83
Mayo评分(分)	10.1 ± 1.3	9.9 ± 1.4	0.73
C-反应蛋白(mg/L)	34.6 ± 17.2	35.6 ± 28.8	0.90
大便次数(次/d)	8.7 ± 2.3	8.5 ± 1.4	0.84
血沉(mm/h)	48.1 ± 27.3	42.7 ± 21.2	0.49

A组患者在第0、2周接受IFX(商品名: 类克, 100 mg/瓶)3.5 mg/kg静滴治疗; B组患者在第0、2、6周接受相同剂量的IFX治疗.

况、内镜下黏膜愈合情况、Mayo评分、血沉、C-反应蛋白、大便次数、糖皮质激素减量情况及不良反应.

1.2.2 临床观察: 大便情况: 治疗前及治疗后第2、4、8周患者大便次数、大便带血情况.

1.2.3 实验室检查: (1)治疗前及治疗后第2、4、8周检查1次C-反应蛋白及血沉; (2)治疗前及治疗后第8周各查1次血清钾、钠、氯、肌酐、尿素氮、谷丙转氨酶、总胆红素.

1.2.4 内镜检查: 观察治疗前及治疗后第8周结肠镜下肠黏膜病变情况, 包括红斑、血管纹理、组织脆性、糜烂出血等情况.

1.2.5 不良事件: 观察有无药物输注反应、迟发型过敏反应(血清病样反应)、药物性红斑狼疮及感染等不良事件的发生. 记录不良事件的发生时间、严重程度、持续时间、采取的措施和转归.

1.2.6 有效性评价: 采用改良的Mayo评分系统[5]评价临床疗效. 临床应答定义为Mayo评分相对于基线值的降幅≥30%及≥3分, 而且便血的分项评分降幅≥1分或该分项评分为0分或1分; 临床缓解定义为评分≤2分且无单个分项评分>1分; 黏膜愈合则被定义为内镜下评分为0或1分[6].

统计学处理 采用SPSS16.0进行统计学分析, 计量资料采用mean±SD表示, A、B两组患者治疗前后自身对照采用配对样本*t*检验, 治疗后不同组间临床应答率、临床缓解率及内镜下黏膜愈合率比较采用χ^2检验, 治疗后不同组间Mayo评分、血沉、C-反应蛋白、大便次数比较采用独立样本*t*检验, 以*P*<0.05为差异具有显著性.

2 结果

2.1 有效性观察

2.1.1 两组患者有效性观察: 治疗后第8周: A组患者中, 14例获得临床应答, 10例获得临床缓解, 11例获得内镜下黏膜愈合, 6例无效, 临床应答率为70%, 临床缓解率为50%, 内镜下黏膜愈合率为55%. Mayo评分由治疗前平均10.1分±1.3分降为3.6分±3.1分(t = 9.43, P = 0.00, P<0.05); 血沉由治疗前平均48.1 mm/h±27.3 mm/h降为21.5 mm/h±15.7 mm/h(t = 4.54, P = 0.00, P<0.05); C-反应蛋白由治疗前平均34.6 mg/L±17.2 mg/L降为11.2 mg/L±8.6 mg/L(t = 6.19, P = 0.00, P<0.05); 大便次数由治疗前每日平均8.7次±2.3次降为每日2.0次±1.3次(t = 11.03, P = 0.00, P<0.05). B组患者中, 16例获得临床应答, 11例获得临床缓解, 12例获得内镜下黏膜愈合, 5例无效, 临床应答率为76%, 临床缓解率为52%, 内镜下黏膜愈合率为57%, Mayo评分由治疗前平均9.9分±1.4分降为3.2分±2.9分(t = 12.03, P = 0.00, P<0.05); 血沉由治疗前平均42.7 mm/h±21.2 mm/h降为20.4 mm/h±15.9 mm/h(t = 5.84, P = 0.00, P<0.05); C-反应蛋白由治疗前平均35.6 mg/L±28.9 mg/L降为10.0 mg/L±6.9 mg/L(t = 4.99, P = 0.00, P<0.05); 大便次数由治疗前平均8.5次/d±1.4次/d降为2.0次/d±1.3次/d(t = 16.07, P = 0.00, P<0.05).

2.1.2 A、B两组患者临床疗效相比: 第8周, 临床应答率(χ^2 = 0.20, P = 0.66, P>0.05)、临床缓解率(χ^2 = 0.02, P = 0.88, P>0.05)及内镜下黏膜愈合率(χ^2 = 0.02, P = 0.89, P>0.05)均无明显差异, 两组患者治疗后的Mayo评分(t = -0.38, P = 0.71, P>0.05)、血沉(t = 0.21, P = 0.84, P>0.05)、C-反应蛋白(t = 0.50, P = 0.62, P>0.05)、大便次数(t = -0.12, P = 0.92, P>0.05)均无明显差别.

2.1.3 A、B两组患者临床总疗效观察: 第8周, 41例患者中, 30例患者获得临床应答, 21例患者获得临床缓解, 23例患者获得内镜下黏膜愈合, 11例患者无效, 临床应答率为73%, 临床缓解率为51%, 内镜下黏膜愈合率为56%. 16例患者停用糖皮质激素, 14例患者减量.

2.2 不良事件: 随访至第8周, 仅有1例患者在第3次静滴IFX过程中出现皮肤瘙痒等轻微输注反应, 给予停止治疗及醋酸地塞米松注射液等抗过敏处理后症状很快消失. 所有患者肝脏功能、肾脏功能等均正常, 且未发生严重感染、肿瘤、神经系统病变等其他不良事件.

3 讨论

UC的病因和发病机制尚未完全阐明, 治疗缺乏

■创新盘点

首次尝试给予低剂量(3.5 mg/kg)的IFX治疗激素抵抗型UC患者, 在第8周, 大部分患者可获得临床应答及缓解, 结肠黏膜愈合, Mayo评分降低, 并逐步减停糖皮质激素, 并且发现2次和3次IFX治疗后, 患者临床应答率和缓解率在第8周无明显差别.

■应用要点
通过观察低剂量、不同给药次数IFX治疗激素抵抗型UC患者的临床疗效及安全性, 为IFX的临床应用提供了一定的参考依据.

特异性, 导致病程迁延, 病情反复, 并发症增多(结肠大出血、穿孔、癌变等), 尤其是中重度UC[7], 3年死亡率高达13%[8]. 该病已严重威胁到患者的身心健康和生活质量, 被世界卫生组织列为疑难病之一[9]. 20世纪40年代开始, 糖皮质激素联合氨基水杨酸制剂用于中重度活动期UC的治疗, 取得了显著的疗效. 但是, 据报道, 仍然有30%-40%的患者对糖皮质激素治疗无效[10,11]. 目前该类患者(包括激素抵抗型UC)治疗效果及治疗后患者生活质量的改善并不理想, 因此需要寻找新方法.

IFX是肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)单克隆人鼠嵌合体IgG1抗体, 由人体恒定区和鼠类可变区组成, 25%为鼠源性, 75%为人源性. 1997年IFX被美国食品与药品管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准用于治疗克罗恩病(Crohn's disease, CD), 2005年被美国FDA批准用于UC的疗效. IFX是应用于炎症性肠病时间最长、循证医学资料最多的生物制剂, 也是目前唯一批准用于UC的生物制剂. IFX可与跨模性和可溶性TNF-α以高亲和力结合, 抑制TNF-α与受体结合, 从而使TNF失去活性[12]. 虽然IFX对UC的作用机制仍不是十分明确, 但IFX已被美国胃肠病学会(American College of Gastroenterology, ACG)作为A级药物治疗中重度激素抵抗或激素依赖型UC推荐列入指南[13]. 国外已有研究肯定了IFX的疗效及安全性, 国内报道较少, 仅江学良[14]通过对40余例激素抵抗型UC经5 mg/kg的IFX治疗后观察发现, IFX治疗激素抵抗型UC患者起效快, 大部分患者1 wk内症状改善或者缓解, 如大便次数明显减少, 2 wk内大便次数基本正常, 而且临床有效率>85%, 临床缓解率>70%.

关于英夫利昔单抗的应用剂量, ACG推荐适合溃疡性结肠炎的IFX的剂量为5 mg/kg. 经典的活动性溃疡性结肠炎试验1和2(active ulcerative colitis trials 1 and 2, ACT-1和ACT-2)发现, 第8周, ACT-1试验中, 5 mg/kg的IFX治疗组与10 mg/kg的IFX治疗组患者获得临床应答率分别为69.4%、61.5%, 临床缓解率38.8%、32%, ACT-2试验中[6], 5 mg/kg的IFX治疗组与10 mg/kg的IFX治疗组患者获得临床应答率分别为64.5%、69.2%, 临床缓解率33.9%、33.0%, 两项试验中5 mg/kg与10 mg/kg治疗组患者第8周在临床应答及缓解率上均无明显差别(P>0.05). 结果提示, 增加IFX剂量并未增加临床疗效. Järnerot等[15]通过一项随机、对照试验, 观察了24例给予IFX治疗(剂量接近5 mg/kg)及21例对照患者的结肠手术切除率、死亡率、内镜下黏膜愈合及临床缓解情况, 证实4-5 mg/kg的IFX治疗中重度UC是有效且安全的. 是否更低的剂量IFX对UC患者仍然有效目前还没有相关研究. 我们在本实验中首次采用3.5 mg/kg的IFX静滴治疗, 在第8周, 41例患者应答率为73%, 临床缓解率为51%, 内镜下结肠黏膜愈合率为56%. 本实验中UC患者较ACT-1及ACT-2试验中患者病情较重, 但在第8周获得临床应答率及缓解率与ACT-1及ACT-2的5 mg/kg剂量组相比有效性无明显差异(P>0.05). 提示有可能本组UC患者对IFX敏感性更高, 这种差异是否与病程及其他用药情况不同引起还需要进一步研究.

关于IFX给药次数, ACG推荐IFX以5 mg/kg的剂量分别于第0、2、6周给予静滴治疗以诱导缓解.有报道指出, 对IFX前2次治疗无应答的患者很难在第3次治疗后获得临床应答, 2次与3次IFX治疗后在第8周的临床疗效是否相同尚未见报道. 本研究中, 我们观察了3.5 mg/kg剂量的IFX2次和3次治疗后患者的临床疗效, 在第8周, UC患者获得临床应答率、临床缓解率及内镜下黏膜愈合率无明显差别(P>0.05). 结果提示, 在第8周, 2次和3次IFX给药可以取得相同诱导缓解效果, 这与ACT-1及ACT-2试验的5 mg/kg、10 mg/kg剂量组中3次IFX给药结果无明显差异(P>0.05), 提示可能本组UC患者接受更少的给药次数能取得相同临床疗效. 不同给药次数在8 wk后是否还有相同临床疗效还需要进一步进行研究观察.

不良反应观察方面, 本试验随访期间仅有1例患者发生皮肤瘙痒等轻微输注反应, 停止IFX治疗并给予醋酸地塞米松注射液等抗过敏治疗后症状很快消失. 与ACT-1及ACT-2试验的第8周不良反应相比, 本实验不良反应发生率降低, 这除与我们严格掌握用药指证、控制滴速等有关外, 还可能与本组患者均为激素抵抗型, 治疗期间均正接受激素治疗、使用IFX剂量低及用药次数少等因素有关. 关于IFX其他报道的不良反应包括迟发型过敏反应、严重感染、加重或诱发中度充血性心力衰竭、恶性肿瘤、自身抗体和药物性红斑狼疮、中枢神经系统脱髓鞘病、淋巴瘤等[16], 最常见的是结核分歧杆菌感染和肿瘤. 从2001-2006年美国大约有130例患者使用IFX期间感染肺结核[17]. Sandborn等[18]报道了IFX的使用

可能会增加结肠切除术后的一些并发症. 本研究尚未发现严重感染、迟发型过敏反应、神经系统损害、肿瘤及狼疮样改变等严重不良事件.

总之, 接受低剂量IFX(3.5 mg/kg)治疗后的激素抵抗型UC患者, 在第8周可获得与ACT-1及ACT-2试验中5 mg/kg剂量组相似的临床应答率、临床缓解及内镜下结肠黏膜愈合率. 与治疗前相比, Mayo评分、血沉、C-反应蛋白、大便次数降低, 并逐步减停糖皮质激素. 3.5 mg/kg的IFX对激素抵抗型UC的患者是有效、经济、安全的. 2次和3次IFX治疗后的患者获得临床应答率及缓解率在第8周无明显差异.

4 参考文献

1 Maltese P, Palma L, Sfara C, de Rocco P, Latiano A, Palmieri O, Corritore G, Annese V, Magnani M. Glucocorticoid resistance in Crohn's disease and ulcerative colitis: an association study investigating GR and FKBP5 gene polymorphisms. *Pharmacogenomics J* 2012; 12: 432-438 [PMID: 21788965 DOI: 10.1038/tpj.2011.26]

2 Lichtenstein GR, Abreu MT, Cohen R, Tremaine W. American Gastroenterological Association Institute technical review on corticosteroids, immunomodulators, and infliximab in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2006; 130: 940-987 [PMID: 16530532 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.01.048]

3 Clark M, Colombel JF, Feagan BC, Fedorak RN, Hanauer SB, Kamm MA, Mayer L, Regueiro C, Rutgeerts P, Sandborn WJ, Sands BE, Schreiber S, Targan S, Travis S, Vermeire S. American gastroenterological association consensus development conference on the use of biologics in the treatment of inflammatory bowel disease, June 21-23, 2006. *Gastroenterology* 2007; 133: 312-339 [PMID: 17631151 DOI: 1053/j.gastro.2007.05.006]

4 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见. 中华内科杂志 2012; 10: 818-831

5 D'Haens G, Sandborn WJ, Feagan BG, Geboes K, Hanauer SB, Irvine EJ, Lémann M, Marteau P, Rutgeerts P, Schölmerich J, Sutherland LR. A review of activity indices and efficacy end points for clinical trials of medical therapy in adults with ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2007; 132: 763-786 [PMID: 17258735 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.12.038]

6 Rutgeerts P, Sandborn WJ, Feagan BG, Reinisch W, Olson A, Johanns J, Travers S, Rachmilewitz D, Hanauer SB, Lichtenstein GR, de Villiers WJ, Present D, Sands BE, Colombel JF. Infliximab for induction and maintenance therapy for ulcerative colitis. *N Engl J Med* 2005; 353: 2462-2476 [PMID: 16339095 DOI: 10.1056/NEJMoa050516]

7 Jopling WH. Long incubation period in kala-azar. *Br Med J* 1955; 2: 1013 [PMID: 13260652 DOI: 10.1136/bmj.2.4946.1013-a]

8 Kaplan GG, McCarthy EP, Ayanian JZ, Korzenik J, Hodin R, Sands BE. Impact of hospital volume on postoperative morbidity and mortality following a colectomy for ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2008; 134: 680-687 [PMID: 18242604 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.01.004]

9 Hanauer SB. Inflammatory bowel disease: epidemiology, pathogenesis, and therapeutic opportunities. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12 Suppl 1: S3-S9 [PMID: 16378007 DOI: 10.1097/01.MIB.0000195385.19268.68]

10 Sonu I, Blonski W, Lin MV, Lichtenstein GR. An approach to the management of refractory ulcerative colitis. *Minerva Gastroenterol Dietol* 2010; 56: 213-231 [PMID: 20485258]

11 Mortensen C, Caspersen S, Christensen NL, Svenningsen L, Thorsgaard N, Christensen LA, Bendtsen F. Treatment of acute ulcerative colitis with infliximab, a retrospective study from three Danish hospitals. *J Crohns Colitis* 2011; 5: 28-33 [PMID: 21272801 DOI: 10.1016/j.crohns.2010.09.004]

12 ten Hove T, van Montfrans C, Peppelenbosch MP, van Deventer SJ. Infliximab treatment induces apoptosis of lamina propria T lymphocytes in Crohn's disease. *Gut* 2002; 50: 206-211 [PMID: 11788561 DOI: 10.1136/gut.50.2.206]

13 Kornbluth A, Sachar DB. Ulcerative colitis practice guidelines in adults: American College Of Gastroenterology, Practice Parameters Committee. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 501-523; quiz 524 [PMID: 20068560 DOI: 10.1038/ajg.2009.727]

14 江学良. 英夫利昔单抗治疗激素抵抗性溃疡性结肠炎的临床观察. 中华消化杂志 2010; 30: 564-565

15 Järnerot G, Hertervig E, Friis-Liby I, Blomquist L, Karlén P, Grännö C, Vilien M, Ström M, Danielsson A, Verbaan H, Hellström PM, Magnuson A, Curman B. Infliximab as rescue therapy in severe to moderately severe ulcerative colitis: a randomized, placebo-controlled study. *Gastroenterology* 2005; 128: 1805-1811 [PMID: 15940615 DOI: 10.1053/j.gaatro.2005.03.003]

16 Hoentjen F, van Bodegraven AA. Safety of anti-tumor necrosis factor therapy in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 2067-2073 [PMID: 19418577 DOI: 10.3748/wjg.15.2067]

17 Raval A, Akhavan-Toyserkani G, Brinker A, Avigan M. Brief communication: characteristics of spontaneous cases of tuberculosis associated with infliximab. *Ann Intern Med* 2007; 147: 699-702 [PMID: 18025446 DOI: 10.7326/0003-4819-147-10-200711200-00006]

18 Mor IJ, Vogel JD, da Luz Moreira A, Shen B, Hammel J, Remzi FH. Infliximab in ulcerative colitis is associated with an increased risk of postoperative complications after restorative proctocolectomy. *Dis Colon Rectum* 2008; 51: 1202-1207; discussion 1202-1207 [PMID: 18536964 DOI: 10.1007/s10350-008-9364-7]

■同行评价

本文内容新颖, 科学性好, 具有临床实际参考价值.

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2013年5月28日; 21(15): 1458-1461
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

雷帕霉素在溃疡性结肠炎患者中应用的临床价值评估

吴慧丽, 张 利, 李琨琨, 肖兴国, 肖 锋, 罗金键

■背景资料
溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)病因、发病机制尚未完全明确, 反复发作型还可出现黏膜癌变, 目前主要用药为美沙拉嗪, 能否找到既能协助有效抗炎反应, 又能在临床治疗上抑制黏膜癌变的药物, 是本研究所探讨的, 其中药物为雷帕霉素.

吴慧丽, 张利, 李琨琨, 肖兴国, 肖锋, 罗金键, 郑州大学附属郑州中心医院消化一科 河南省郑州市 450007
吴慧丽, 主任医师, 主要从事消化内镜诊疗及炎症性肠病的相关研究.
郑州市科研基金资助项目, No. 121PPTGG504-7
作者贡献分布: 吴慧丽负责课题管理及设计; 张利负责数据整理及分析、参与免疫印迹试验操作等; 李琨琨负责病例收集、服药治疗指导及标本预处理等; 肖兴国配合标本预处理及血清送检等; 肖锋进行血清标本的收集及患者的日常护理等; 罗金键进行肠镜操作及镜下标本收集等.
通讯作者: 张利, 主治医师, 450007, 河南省郑州市桐柏路195号, 郑州市中心医院消化一科. baker818@126.com
收稿日期: 2013-03-04 修回日期: 2013-03-24
接受日期: 2013-04-12 在线出版日期: 2013-05-28

Rapamycin for treatment of ulcerative colitis

Hui-Li Wu, Li Zhang, Kun-Kun Li, Xing-Guo Xiao, Feng Xiao, Jin-Jian Luo

Hui-Li Wu, Li Zhang, Kun-Kun Li, Xing-Guo Xiao, Feng Xiao, Jin-Jian Luo, Department of Gastroenterology, Central Hospital of Zhengzhou City, Zhengzhou 450007, Henan Province, China
Supported by: the Zhengzhou Science Research Fund, No. 121PPTGG504-7
Correspondence to: Li Zhang, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Central Hospital of Zhengzhou City, 195 Tongbai Road, Zhengzhou 450007, Henan Province, China. baker818@126.com
Received: 2013-03-04 Revised: 2013-03-24
Accepted: 2013-04-12 Published online: 2013-05-28

Abstract

AIM: To assess the effect of mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway inhibitor rapamycin in the management of ulcerative colitis in terms of anti-inflammation and inhibition of malignant transformation.

METHODS: Fifty patients with ulcerative colitis were enrolled, including 35 treated with rapamycin for 10 d on the basis of oral mesalazine and 20 treated with placebo on the basis of oral mesalazin. Ulcer healing was observed by electron colonoscopy. The expression of nuclear factor-κB (NF-κB) and cyclooxygenase 2 (COX-2) in colonic mucosa and serum levels of proinflammatory factors tumor necrosis factor-alpha (TNF-α), interleukin-6 (IL-6) and IL-10 were determined. In addition, expression of tumor suppressor genes *PTEN*, *PHLPP* and *Rb* was detected.

RESULTS: In the experimental group, three patients discontinued the treatment, including one due to oral ulcer and two due to abdominal pain and exacerbation of bloody stool. Thus, a total of 32 patients completed the study. Compared to the control group, ulcer surface was significantly reduced, the expression of colonic NF-κB and COX-2 and serum IL-6 were significantly decreased (all $P < 0.05$), and IL-10 level was significantly increased ($P < 0.01$) in the treatment group. In addition, the expression of PTEN, PHLPP and Rb was significantly increased in the treatment group compared to the control group (all $P < 0.01$), although serum TNF-α level showed no statistically significant difference between the two groups.

CONCLUSION: Rapamycin plus mesalazine can relieve inflammation and prevent malignant transformation in ulcerative colitis possibly by inhibiting the Akt/mTOR pathway.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Rapamycin; Ulcerative colitis; Akt/mTOR signal pathway; PTEN; PHLPP; Rb

Wu HL, Zhang L, Li KK, Xiao XG, Xiao F, Luo JJ. Rapamycin for treatment of ulcerative colitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(15): 1458-1461 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1458.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i15.1458

摘要

目的: 研究雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)通路抑制剂雷帕霉素在溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)中的抗炎及抑制癌变的临床价值评估.

方法: 我院55例UC患者, 35例通过在口服美沙拉嗪的基础上加用雷帕霉素治疗10 d后, 对照组20例为口服美沙拉嗪的基础上加用安慰剂, 观察电子结肠镜下溃疡面在治疗

■同行评议者
刘杰民, 副主任医师, 贵州省人民医院消化内镜科

前后愈合比较, 并检测治疗前后黏膜核因子-κB(nuclear factor-κB, NF-κB)、环氧化酶2(cyclooxygenase 2, Cox2)表达变化, 血清促炎因子肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-alpha, TNF-α)、白介素-6(interleukin-6, IL-6)及抑炎因子IL-10变化, 同时检测治疗前后抑癌基因*PTEN*、*PHLPP*、*Rb*的表达变化.

结果: 实验组有1例患者出现口腔溃疡, 2例患者因出现腹痛、排黏液脓血便加重而终止, 余32例完成该研究, 与对照组治疗比较, 其中结肠镜下可见治疗后溃疡面明显减少, 局部黏膜愈合较快; 黏膜核因子NF-κB(0.116±0.026)、Cox2(0.035±0.12)、促炎因子IL-6(13.25±3.78)表达量明显减低(P<0.05), 抑炎因子IL-10(67.23±5.03)检测量增高(P<0.01), 抑癌基因*PTEN*(0.212±0.18)、*PHLPP*(0.312±0.43)、*Rb*(0.285±0.15)表达水平明显增高(P<0.01), 血清TNF-α(19.24±3.25)无统计学意义.

结论: 雷帕霉素作为免疫抑制剂联合美沙拉嗪可减轻UC炎症反应; 并可通过抑制Akt/mTOR通路预防UC黏膜癌变.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 雷帕霉素; 溃疡性结肠炎; Akt/mTOR信号通路; PTEN; PHLPP; Rb

核心提示: 雷帕霉素作为免疫抑制剂联合美沙拉嗪可减轻溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)炎症反应; 并可通过抑制Akt/mTOR通路预防UC黏膜癌变.

吴慧丽, 张利, 李琨琨, 肖兴国, 肖锋, 罗金键. 雷帕霉素在溃疡性结肠炎患者中应用的临床价值评估. 世界华人消化杂志 2013; 21(15): 1458-1461 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1458.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i15.1458

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种病因、发病机制尚未完全明确的结直肠慢性非特异性炎症反应, 病变主要累及黏膜及黏膜下层, 促炎及抗炎因子失衡在UC发病过程中起重要作用, 反复发作型还可出现黏膜癌变[1]. 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)信号通路与肿瘤发生、发展和转移有关, 其转导的信号通路的异常与多种肿瘤的形成密切相关, 是肿瘤的治疗靶点之一[2-5]. 对RCC移植动物模型的研究发现[6], mTOR抑制剂(如雷帕霉素)与血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)抑制剂(如苏尼替尼)具有协同抗肿瘤作用. 同时雷帕霉素作为大环类脂类免疫抑制剂在肾移植患者预防排斥反应临床效果显著, 但作为免疫抑制剂应用于UC尚无相关研究, 本研究重在评估雷帕霉素在治疗UC中的抗炎及抑制癌变的临床价值.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2011-03/2012-12在我院消化科治疗并经病理证实为UC患者55例, 其中男15例, 平均年龄50岁±5岁, 女40例, 平均年龄37岁±6岁, 其中30例为中度, 9例为重度, 16例为轻度, 本研究所有受试对象均签署治疗同意书, 并做好不良反应应急预案. 电子结肠镜(Olympus), 西罗莫司片(美国WyethPharmaceuticals公司), 细胞裂解液(晶美生物), Western blot试剂盒, 核因子-κB(nuclear factor-κB, NF-κB)、环氧化酶2(cyclooxygenase 2, Cox2)、PTEN、PHLPP、Rb兔抗人一抗, 羊抗兔二抗, Ecl试剂盒(Santa公司), 5×上样baffer, 电泳和电转槽, 底片、显影液和定影液.

1.2 方法

1.2.1 治疗方法: 实验组: 35例UC, 用药前查结肠镜了解溃疡范围及活动度, 同时结肠镜下取组织行NF-κB、Cox2、PTEN、PHLPP、Rb蛋白定量检测, 同时检测血清促炎因子肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-alpha, TNF-α)、白介素-6(interleukin-6, IL-6)水平, 抑炎因子IL-10水平(血清检测在我院检验中心进行: 郑州市重点检验室), 对照组: 20例同样通过结肠镜了解溃疡范围及活动度, 同时结肠镜下取组织行NF-κB、Cox2、PTEN、PHLPP、Rb蛋白定量检测, 同时检测血清促炎因子TNF-α、IL-6水平, 抑炎因子IL-10水平; (2)受试患者在口服美沙拉嗪颗粒1.0 g, 4次/d的基础上, 免费加用西罗莫司片1 mg, 1片/d, 连续10 d, 维持血液浓度5 μg/L, 服药期间严密观察患者口腔黏膜、腹痛及大便情况, 并检测肝功能及血脂. 对照组在口服美沙拉嗪颗粒1.0 g, 4次/d的基础上加用安慰剂葡萄糖粉; (3)实验组及对照组患者10 d后查结肠镜再次评估溃疡范围及活动度, 临床程度评级: 可分为轻度、中度和重度. 轻度: 患者腹泻4次/d以下, 便血轻或无, 无发热、脉搏加快或贫血, 血沉正常; 中度: 介于轻度和重度之间; 重度: 腹泻6次/d以上, 明显黏液血便, 体温>37.5 ℃, 脉搏>90次

■研发前沿
哺乳动物雷帕霉素靶蛋白信号通路与肿瘤发生、发展和转移有关, 其转导的信号通路的异常与多种肿瘤的形成密切相关, 是肿瘤的治疗靶点之一, 且作为免疫抑制剂应用于肾移植免疫排斥反应.

■相关报道
目前国内有报道, 雷帕霉素应用于临床协同抗肿瘤, 但对UC预防黏膜癌变尚无类似研究. 其作为免疫抑制剂, 用于肾移植患者, 但对UC的抗炎、抑制免疫同样尚无类似报道, 是本研究重点解决问题.

■创新盘点
探讨雷帕霉素在UC临床应用的双重作用: 抗炎及抗肿瘤作用. 抗炎是作为免疫抑制剂, 抗肿瘤是作为雷帕霉素靶蛋白信号通路抑制剂.

表 1 治疗前后血清TNF-α、IL-6水平和抑炎因子IL-10的变化 (μg/L)

临床实验分组	*n*	TNF-α	IL-6	IL-10
对照组				
口服安慰剂前	20	32.15 ± 4.26	30.21 ± 3.58	24.16 ± 4.02
口服安慰剂后	20	20.46 ± 3.68	17.35 ± 4.25	50.25 ± 3.56
实验组				
口服RAP前	35	34.25 ± 4.07	32.25 ± 4.05	22.56 ± 4.21
口服RAP后	32	19.24 ± 3.25	13.25 ± 3.78	67.23 ± 5.03

TNF: 肿瘤坏死因子; IL: 白介素.

表 2 Western-blot检测NF-κB、Cox2、PTEN、PHLPP和Rb蛋白的表达

分组	NF-κB	Cox2	PTEN	PHLPP	Rb
对照组					
治疗前	0.246 ± 0.028	0.115 ± 0.20	0.095 ± 0.20	0.118 ± 0.25	0.134 ± 0.11
治疗后	0.205 ± 0.046	0.106 ± 0.10	0.085 ± 0.22	0.115 ± 0.30	0.129 ± 0.10
实验组					
治疗前	0.35 ± 0.054	0.128 ± 0.09	0.074 ± 0.17	0.113 ± 0.45	0.110 ± 0.12
治疗后	0.116 ± 0.026[a]	0.035 ± 0.12[b]	0.212 ± 0.18[b]	0.312 ± 0.43[b]	0.285 ± 0.15[b]

[a]*P*<0.05, [b]*P*<0.01 *vs* 对照组. NF-κB: 核因子κB; Cox2: 环氧化酶2.

/min, 血红蛋白30 mm/h. 同时结肠镜下取组织行NF-κB、Cox2、PTEN、PHLPP、Rb蛋白定量检测, 同时检测血清促炎因子TNF-α、IL-6水平, 抑炎因子IL-10水平.

1.2.2 Western blot检测NF-κB、Cox2、PTEN、PHLPP、Rb蛋白表达: 将收集各类样品在低温下, 加裂解液提取总蛋白, 取400 μL裂解上清液, Bradford法测定蛋白浓度"每种样品以20 μg总蛋白上样, 进行12.5%PAGE凝胶泳, 100 V, 40 min电泳结束后, 取下凝胶25 V电转2 h, 使蛋白转移至硝酸纤维素膜(NC)膜上, 将NC膜用封闭液封闭非特异性抗体2 h, 加入一抗(兔抗人抗体1∶1000), 4 ℃度摇床孵育过夜加入二抗(羊抗兔1∶2000)室温孵育1 h, 将NC膜置于ECL(增强化学发光试剂)中反应1-3 min, 暗室中使X线片曝光,常规方法显影定影, X线片上的条带用图像分析系统进行分析, 测定积分灰度值, 将NF-κB、Cox2、PTEN、PHLPP、Rb/β-actin的比值作为蛋白的相对表达量.

统计学处理 数据以mean±SD表示, 采用SPSS13.0软件, 治疗前后比较采用配对*t*检验, 计数资料采用有序多分类资料秩和检验. *P*<0.05为差异有统计学意义.

■应用要点
指导雷帕霉素的临床治疗, 并了解其最佳血清浓度及临床不良反应, 但需要更多临床资料作为佐证.

2 结果

35例受试患者在口服美沙拉嗪颗粒1.0 g, 4次/d的基础上, 免费加用西罗莫司片1 mg, 1片/d, 连续10 d, 维持血液浓度5 μg/L, 其中有2例出现腹痛、排黏液脓血便加重, 有1例出现口腔溃疡而终止试验, 余32例均完成试验, 其中3例出现血脂异常变化.

Mayo活动指数评分[7]及疾病活动指数评分减低百分比及有效率[1]: 结果显示受试组32例评分由8.56±1.05, 下降至1.23±0.96, 而对照组为7.56±2.15, 下降至3.5±1.48, 两组均有下降*P*<0.05, 但两组间下降幅度比较也有显著差异*P* = 0.0073; 显效率比较, 受试组26/32, 对照组15/20, 在两组显效率上无明显差异.

血清TNF-α、IL-6水平, 抑炎因子IL-10两组治疗前后比较(表1).

Western blot检测NF-κB、Cox2、PTEN、PHLPP、Rb蛋白表达/GAPDH与对照组比较(mean±SD, *n* = 10)(表2).

3 讨论

UC是一种病因尚不完全明确的肠道非特异性炎症, 其中肠道黏膜免疫系统异常在UC发生发展

中起决定作用, 难治, 易反复发作, 并出现黏膜重度不典型增生及癌变[8].

苗新普等[9]证实, NF-κB在UC患者肠黏膜组织表达水平高于正常组织, 且随炎症反应加重而增高, 并与肠黏膜病理组织分级显正相关. 本研究试验组在10 d后, NF-κB表达, 下降幅度与对照组比较$P = 0.0326$, 下降幅度有统计学意义. Huang等[10]和Paiotti等[11]证实, Cox2在UC肠道炎症反应发生中起重要作用, 活动性UC患者表达明显增强, 且与病情严重程度显正相关. 同样在本研究中, 受试组口服雷帕霉素10 d后Cox2表达水平较对照组下降明显$P<0.01$, 说明在口服美沙拉嗪颗粒基础上, 加用雷帕霉素, 起到比单用美沙拉嗪颗粒更好的减轻黏膜炎症反应. TNF-α介导的信号传导主要通过2个结构不同的受体进行: 1型受体(TNFR1)和2型受体(TNFR2), TNFR1的信号的两个方向一个是导致细胞凋亡, 另一个是引起炎症的发生, 这也是TNFR1信号通路的主要特征, 而有关TNFR2可能只是一个传递受体的假说的研究. 此次研究发现, TNF-α表达变化与对照组比较, 无统计学差异, 这可能雷帕霉素在抑制炎症因子生存即TNF-α促炎作用同时, 可以调控Akt/mTOR通道, 增强TNF-α诱导不典型增生细胞凋亡; 其中检测血清促炎因子IL-6及抑炎因子IL-10表达差异显示, 同样得出雷帕霉素可通过调节免疫, 减低炎症反应, 上调抑炎因子IL-10的表达水平, 减低促炎因子IL-6的表达, 从而促进溃疡面愈合, 但以上调节分子机制有待进一步研究.

现今公认的新型肠道抑癌基因有: *PTEN*、*PHLPP*、*Rb*, 其中本实验检测到, 受试组加用mTOR通道抑制剂后, 以上抑癌基因表达水平明显升高, 分析可能雷帕霉素调控mTOR通道, 提高PTEN、PHLPP、Rb表达水平, 起到抑制UC结肠黏膜癌变作用, 这与理论: (1)PTEN通过其磷酸酶活性调控Akt/mTOR通路去磷酸化, 发挥肿瘤抑制功能[12], 同时可调控VEGF发挥肿瘤抑制功能[13]; (2)PHLPP的缺失导致细胞中的Akt持续磷酸化, 进而导致肿瘤的发生、发展; 恢复结肠癌细胞中PHLPP的表达后, 可抑制结肠癌细胞的异常增殖[14]; (3)*Rb*基因去磷酸化是通过结合并阻断某些转录因子的作用而抑制细胞从G_0期进入S期, 阻断细胞转录, 抑制DNA合成[15], 同时研究发现, Akt/mTOR磷酸化可引起*Rb*基因磷酸化, 但其机制尚不完全明确, 一致.

总之, 作为Akt下游分子信号通路, mTOR信号通路抑制剂雷帕霉素作为免疫抑制剂联合美沙拉嗪可减轻UC炎症反应, 并可通过抑制Akt/mTOR通路预防UC黏膜癌变.

■同行评价

本文为临床治疗UC开拓了思路, 为雷帕霉素的临床应用提供了依据, 对指导临床工作具有重要价值.

4 参考文献

1 霍丽娟, 安丽婷, 师永盛. 美沙拉嗪联合双歧三联活菌治疗溃疡性结肠炎的临床疗效观察. 中华消化杂志 2012; 32: 523-527

2 Chan S. Targeting the mammalian target of rapamycin (mTOR): a new approach to treating cancer. *Br J Cancer* 2004; 91: 1420-1424 [PMID: 15365568 DOI: 10.1038/sj.bjc.6602162]

3 项洪刚, 王强, 胡志前, 徐健, 王伟军, 卫子然. 人结直肠癌组织中EGFR/Grb2/p-mTOR/VEGF的表达的意义. 第二军医大学学报 2009; 30: 775-779

4 肖秀英, 于宝华, 王丽莎, 倪淑娟, 杨晓燕, 朱玉芬. 结直肠癌原发及转移灶中PI3K、p-Akt及mTOR的表达及意义. 中国癌症杂志 2011; 21: 247-250

5 张志永, 张谢夫. mTOR与JNK信号通路在人结肠癌HT-29细胞中的作用及相互关系. 世界华人消化杂志 2011; 19: 2735-2740

6 Wacheck V. mTOR pathway inhibitors in cancer therapy: moving past rapamycin. *Pharmacogenomics* 2010; 11: 1189-1191 [PMID: 20860456 DOI: 10.2217/pgs.10.113]

7 欧阳钦. 溃疡性结肠炎临床诊断指南. 临床消化病杂志 2007; 19: 4-6

8 李阳, 李飞, 刘文天, 方维丽, 张洁. 溃疡性结肠炎结肠粘膜脱氧核糖核酸甲基转移酶3 a 表达及作用研究. 中华消化杂志 2011; 31: 673-676

9 苗新普, 欧阳钦, 韦红. COX2、PPARr和NF-kB p65在溃疡性结肠炎组织中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2010; 18: 2660-2665

10 Huang ZF, Massey JB, Via DP. Differential regulation of cyclooxygenase-2 (COX-2) mRNA stability by interleukin-1 beta (IL-1 beta) and tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) in human in vitro differentiated macrophages. *Biochem Pharmacol* 2000; 59: 187-194 [PMID: 10810453]

11 Paiotti AP, Artigiani Neto R, Forones NM, Oshima CT, Miszputen SJ, Franco M. Immunoexpression of cyclooxygenase-1 and -2 in ulcerative colitis. *Braz J Med Biol Res* 2007; 40: 911-918 [PMID: 17653443]

12 成志勇, 王素云, 卞永生, 温省初, 杨宁, 高晓丽, 韩英, 潘峻. PTEN/Akt/mTOR通路增加K562/ADM细胞化疗敏感性. 基础医学与临床 2012; 32: 49-55

13 成志勇, 潘峻, 牛志云, 梁文同, 贾志强, 颜晓燕, 姚丽, 杨敬慈. PTEN基因转染对白血病细胞VEGF调控作用的影响. 肿瘤 2010; 30: 815-821

14 Liu J, Weiss HL, Rychahou P, Jackson LN, Evers BM, Gao T. Loss of PHLPP expression in colon cancer: role in proliferation and tumorigenesis. *Oncogene* 2009; 28: 994-1004 [PMID: 19079341 DOI: 10.1038/onc.2008.450]

15 张凤艳, 张金子, 邹树彪, 程志芬, 才勇, 玄延花. 胃癌组织中p21、p27、p53和Rb的表达及临床意义. 临床与实验病理学杂志 2011; 27: 586-589

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2013年5月28日; 21(15): 1462-1467
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

蛋白酪氨酸磷酸酶非受体型22基因rs2488457位点多态性与溃疡性结肠炎的相关性

陈志涛, 吴 杰, 王 萍, 张 姮, 夏 冰, 黄晓东

■背景资料
溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种病因不明的慢性肠道炎性疾病, 反复发作, 难以治愈, 严重影响患者的生活质量. 随着基因多态性与疾病易感性研究工作的进展, 基因多态性研究有望为筛选UC的高危人群及预防工作提供理论依据.

陈志涛, 吴杰, 王萍, 张姮, 黄晓东, 武汉市中心医院消化内科 武汉市中心医院中心实验室 湖北省武汉市 430014
夏冰, 武汉大学中南医院消化内科 湖北省医学肠病临床研究中心 湖北省过敏与免疫相关疾病重点实验室 湖北省武汉市 430071
陈志涛, 消化内科博士, 武汉市中心医院消化内科主治医师, 主要从事炎症性肠病的遗传免疫学研究.
武汉市卫生局基金资助项目, No. WX12C34
作者贡献分布: 此课题的设计与写作由陈志涛与吴杰完成; 标本采集由陈志涛、王萍及黄晓东完成; 研究过程由陈志涛与张姮完成; 数据分析由陈志涛、吴杰及夏冰完成.
通讯作者: 吴杰, 主任医师, 430014, 湖北省武汉市江岸区胜利街26号, 武汉市中心医院消化内科, 武汉市中心医院中心实验室. wujie_20120803@163.com
收稿日期: 2013-03-28 修回日期: 2013-04-06
接受日期: 2013-04-12 在线出版日期: 2013-05-28

Association between protein tyrosine phosphatase nonreceptor type 22 gene rs2488457 polymorphism and ulcerative colitis

Zhi-Tao Chen, Jie Wu, Ping Wang, Heng Zhang, Bing Xia, Xiao-Dong Huang

Zhi-Tao Chen, Jie Wu, Ping Wang, Heng Zhang, Xiao-Dong Huang, Department of Gastroenterology and Central Laboratory, Wuhan Central Hospital, Wuhan 430014, Hubei Province, China
Bing Xia, Department of Gastroenterology, Wuhan University Zhongnan Hospital, Clinical Research Center for Intestinal and Colorectal Diseases of Hubei Province, Wuhan 430071, Hubei Province, China
Correspondence to: Jie Wu, Chief Physician, Department of Gastroenterology and Central Laboratory, Wuhan Central Hospital, 26 Shengli Street, Jiangan District, Wuhan 430014, Hubei Province, China. wujie_20120803@163.com
Received: 2013-03-28 Revised: 2013-04-06
Accepted: 2013-04-12 Published online: 2013-05-28

Abstract

AIM: To evaluate the association between protein tyrosine phosphatase nonreceptor type 22 (*PTPN22*) gene polymorphisms (-1123G/C in the promoter and +788G/A in exon 10) and disease susceptibility and phenotypes of ulcerative colitis (UC), and to investigate PTPN22 mRNA expression in colonic biopsies of UC patients.

METHODS: A total of 165 UC patients and 300 healthy controls were enrolled in this study. *PTPN22* gene -1123G/C and +788G/A polymorphisms were genotyped by polymerase chain reaction-based restriction fragment length polymorphism. PTPN22 mRNA expression in colonic biopsies of UC patients and controls was determined by quantitative RT-PCR.

RESULTS: The frequencies of "CC + CG" genotypes and C allele were higher in UC patients than in healthy controls (66.7% *vs* 53.3%, P = 0.005, OR = 1.75, 95%CI: 1.18-2.60; 41.5% *vs* 33.5%, P = 0.015, OR = 1.41, 95%CI: 1.07-1.86), and were associated with extensive colitis (P = 0.029). In UC patients, PTPN22 mRNA expression levels were elevated in active disease compared to inactive disease (P = 0.005). There was no association between PTPN22 mRNA expression levels and -1123G/C polymorphism in UC patients. *PTPN22* gene +788G/A polymorphism did not show any association with UC.

CONCLUSION: Our study demonstrates a potential association between *PTPN22* -1123G/C polymorphism and UC in central China. PTPN22 mRNA is highly expressed in active UC, suggesting that PTPN22 may play an important role in the pathogenesis of UC.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Protein tyrosine phosphatase nonreceptor type 22; Ulcerative colitis; Polymorphism; Expression

Chen ZT, Wu J, Wang P, Zhang H, Xia B, Huang XD. Association between protein tyrosine phosphatase nonreceptor type 22 gene rs2488457 polymorphism and ulcerative colitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(15): 1462-1467 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1462.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i15.1462

摘要

目的: 本实验探讨蛋白酪氨酸磷酸酶非受体型22基因(protein tyrosine phosphatase nonreceptor type 22, *PTPN22*)启动子区-1123G/

■同行评议者
樊红, 教授, 东南大学医学院, 发育与疾病相关基因教育部重点实验室, 东南大学基础医学院, 遗传与发育生物学系

C及外显子10区+788G/A多态性与湖北汉族溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)的相关性, 研究UC患者肠黏膜PTPN22 mRNA表达.

方法: 收集165例UC患者和300名健康对照者, 采用聚合酶链式反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)方法检测*PTPN22*基因-1123G/C和+788G/A位点多态性. 实时定量PCR方法测定肠黏膜PTPN22 mRNA表达.

结果: UC患者*PTPN22*基因-1123G/C位点"CC+CG"基因型和C等位基因频率显著高于正常对照组(66.7% *vs* 53.3%, $P = 0.005$, OR = 1.75, 95%CI: 1.18-2.60; 41.5% *vs* 33.5%, $P = 0.015$, OR = 1.41, 95%CI: 1.07-1.86), 且与广泛性结肠炎相关($P = 0.029$). 与缓解期UC患者比, 活动期UC患者肠黏膜PTPN22 mRNA的水平显著增高($P = 0.005$). UC患者*PTPN22*基因-1123G/C基因型与肠黏膜PTPN22 mRNA的水平无关. UC组+788G/A基因型频率与对照组比, 差异无统计学意义.

结论: *PTPN22*基因启动子区-1123G/C位点C等位基因频率与湖北汉族UC相关, 活动期UC患者肠黏膜PTPN22 mRNA水平增高, 提示*PTPN22*基因在UC遗传免疫发病机制中可能起重要作用.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 蛋白酪氨酸磷酸酶非受体型22基因; 溃疡性结肠炎; 多态性; 表达

核心提示: 蛋白酪氨酸磷酸酶非受体型22(protein tyrosine phosphatase nonreceptor type 22, *PTPN22*)基因启动子区-1123G/C位点C等位基因与湖北汉族UC相关, 活动性溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)患者肠黏膜PTPN22 mRNA水平增高, 提示*PTPN22*基因在UC遗传免疫发病机制中可能起重要作用.

陈志涛, 吴杰, 王萍, 张妲, 夏冰, 黄晓东. 蛋白酪氨酸磷酸酶非受体型22基因rs2488457位点多态性与溃疡性结肠炎的相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21(15): 1462-1467 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1462.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i15.1462

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种病因不明的慢性肠道炎性疾病, 病变主要累及肠道黏膜层及黏膜下层. 临床表现为黏液脓血便、腹痛、腹泻甚至癌变等, 病情轻重不等, 反复发作, 难以治愈, 严重影响患者生活质量. 研究提示UC发病机制可能为遗传与环境等综合作用, 致使肠黏膜免疫反应过高所致, 其中T细胞过度活化起重要作用[1]. 蛋白酪氨酸磷酸酶非受体型22基因(protein tyrosine phosphatase nonreceptor type 22, *PTPN22*)定位于人染色体1p13, 编码淋巴特异性酪氨酸磷酸酶(lymphoid tyrosine phosphatase, LYP). LYP属于酪氨酸磷酸酶家族, 在T细胞胞内表达, T细胞激活后, LYP通过与酪氨酸激酶CSK的SH3结构域结合, 使已磷酸化的SCK家族Lck、Fyn和Zap-70激酶脱磷酸化, 抑制T细胞信号转导, 下调T细胞活化, 具有免疫抑制作用和抗炎作用[2,3]. 多数研究提示*PTPN22*基因多态性与多种自身免疫性疾病相关[4]. 显示*PTPN22*基因启动子区-1123G/C多态性与I型糖尿病、类风湿性关节炎相关, 且提示该基因多态性可以影响PTPN22 mRNA表达水平[5,6]. 近来研究发现*PTPN22*基因外显子10区+788G/A多态性与欧美UC显著相关[7]. 然而至今鲜见*PTPN22*基因与我国UC遗传易感性的研究报道. 本文旨在探讨*PTPN22*基因启动子区-1123G/C和外显子10区+788G/A多态性与UC的相关性, 检测PTPN22 mRNA在UC患者肠黏膜中的表达状况及其与*PTPN22*基因多态性的关系.

■研发前沿
基因多态性与UC的遗传易感性研究一直是国内外学者研究的热点, 其分布具有较强的地域和种族特征, 因此对二者进行研究可能会为UC的预防及治疗提供一定线索.

1 材料和方法

1.1 材料 收集武汉市中心医院及武汉市其他大型综合医院2005-01/2012-08期间的UC患者165例, 男95例(57.6%), 女70例(42.4%), 平均年龄41.3岁±13.5岁, 经临床、实验室、放射学、内镜及组织学检查综合诊断. 诊断标准参考中华医学会消化病学分会"对我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见"制定[8]. 所有UC患者的临床资料均登记注册, 有完整的结肠镜和病理学资料. 其中直肠炎55例(33.3%), 左半结肠炎62例(37.6%), 广泛型结肠炎48例(29.1%); 24例患者有肠外表现(14.5%); 有1例患者(0.6%)行结肠切除. 其中57例UC患者被随机纳入PTPN22 mRNA的表达研究.

正常对照者300例, 男165例(55.0%), 女135例(45.0%), 平均年龄43.7岁±11.2岁, 来自2005-01/2012-08期间于武汉市中心医院的健康体检者, 均无炎症性肠病、肠道肿瘤及其他自身免疫性疾病史. 所有受试对象均签署知情同意书.

1.2 方法

1.2.1 模板DNA制备: 采集UC患者和正常对照者

■相关报道
Viken等研究提示蛋白酪氨酸磷酸酶非受体型22(protein tyrosine phosphatase nonreceptor type 22, *PTPN22*)基因-1123G/C多态性可以影响类风湿性关节炎患者外周血单个核细胞中PTPN22 mRNA的表达水平, 从而参与疾病的发生.

外周静脉血2 mL(EDTA抗凝), 用Qiagen DNA提取试剂盒(德国QIAGEN公司)提取人血白细胞基因组DNA.

1.2.2 *PTPN22*基因启动子区-1123G/C(rs2488457)和外显子10区+788G/A(rs33996649)多态性检测: 采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性(polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, PCR-RELP)方法检测rs2488457和rs33996649位点多态性. (1)包括-1123G/C和+788G/A位点基因片段扩增: PCR引物序列如下[9], -1123G/C位点: 上游5'-CCA TTG AGA GGT TAT GCG AGC T-3', 下游5'-CGC CAC CTT GCT GAC AAC AT-3'; +788G/A位点: 上游5'-GAT GGA GCA AGA CTC AGA CAC-3', 下游5'-CCC CAT GTT AGA AGA GCA GAT-3'. PCR扩增条件: 95 ℃预变性5 min, 95 ℃变性40 s, 56 ℃退火40 s, 72 ℃延伸40 s, 35个循环, 最后72 ℃延伸5 min; (2)多态性分析: 向PCR产物中分别加入限制性内切酶*Sac* Ⅰ和*Msp* Ⅰ(Fermentas, Burlington, ON, Canada), 于37 ℃水浴3 h后, 经2.5%琼脂糖凝胶电泳分离. 部分PCR产物经测序(北京诺赛基因组研究中心)后, 作为阳性对照用于辅助判断其他样本基因型.

1.2.3 肠黏膜标本采集: UC患者在进行结肠镜检查时, 活检取其肠黏膜组织. 其中病变活动期在炎性反应最显著处取材, 缓解期在未见炎性病变处取材, 组织标本-80 ℃保存待测.

1.2.4 总RNA提取和cDNA合成: TRIzol法抽提UC患者和对照者肠黏膜总RNA, RNA质量由吸光度值($A_{260/280}$)和甲醛变性电泳共同鉴定. 取电泳至少出现2条条带及$A_{260/280}$比值在1.8以上的RNA进行下一步实验, 并统一各样本RNA浓度至0.5 μg/μL. 取总RNA 1 μg逆转录为cDNA, 具体步骤参考逆转录试剂盒说明书(美国Fermentas).

1.2.5 实时定量PCR: 采用SYBR Green实时定量PCR试剂盒(日本Takara)检测肠黏膜PTPN22 mRNA表达水平. 用β-actin作为内参照基因. 引物序列如下[10]: PTPN22 mRNA: 上游5'-TGC CCA CCA AAC AAG CC-3', 下游5'-TGG TGG TGG ATT CCT TGG-3'; β-actin mRNA: 上游5'-AGC CAT GTA CGT TGC TAT-3', 下游5'-CTT AAT GTC ACG CAC GAT TT-3'. 于实时定量PCR扩增仪Rotor-Gene 3000(澳大利亚)上完成扩增, 扩增条件: 95 ℃预变性10 min后, 95 ℃变性20 s, 56 ℃退火20 s, 72 ℃延伸20 s, 45个循环, 最后72 ℃延伸10 min. 采用标准化后的$2^{-\Delta\Delta Ct}$方法来分析目的基因PTPN22 mRNA表达[11].

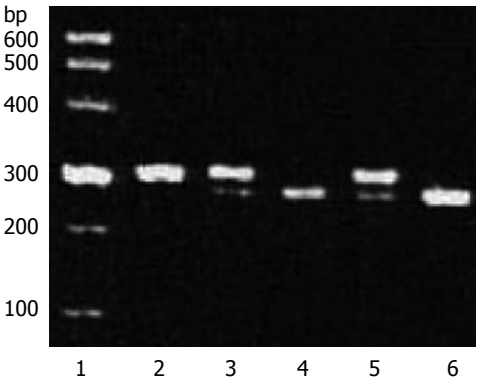


图 1 *PTPN22*基因-1123G/C位点*Sac* Ⅰ酶切凝胶电泳图. 1: DNA Marker; 2: CC基因型; 3, 5: GC基因型; 4, 6: GG基因型.

统计学处理 应用统计软件SPSS 15.0进行统计学分析, $P<0.05$为差异有统计学意义. 频数资料采用χ^2检验及Fisher's精确概率法. 为防止Ⅰ类统计学错误, 采用Bonferroni多重校正. 连续变量资料采用mean±SD表示, 组间比较采用独立样本*t*检验.

2 结果

2.1 *PTPN22*基因-1123G/C和+788G/A多态性分析 基因型判读: -1123G/C位点经*Sac* Ⅰ消化后的酶切产物为298 bp和25 bp 2条带为GG型, 323 bp、298 bp和25 bp 3条带为GC型, 323 bp 1条带为CC型, 因25 bp太小, 图中未能显示(图1). *PTPN22*基因+788G/A位点经*Msp* Ⅰ消化后的酶切产物为143 bp和91 bp 2条带为GG型, 234 bp、143 bp和91 bp 3条带为GA型, 234 bp 1条带为AA型.

经χ^2检验, UC患者和正常对照者*PTPN22*基因-1123G/C和+788G/A基因型分布符合Hardy-Weinberg平衡规律, 结果表明所选人群具有群体代表性. UC患者性别、年龄与正常对照者相比, 差异无统计学意义($P = 0.592$; $P = 0.849$). UC组和正常对照组中, *PTPN22*基因-1123G/C和+788G/A等位基因及基因型分布见表1. 与正常对照者比, UC患者-1123G/C位点C等位基因频率显著增高, 差异有统计学意义(41.5% *vs* 33.5%, $P = 0.015$, OR = 1.41, 95%CI: 1.07-1.86). UC患者-1123G/C位点"CC+CG"基因型频率亦显著高于正常对照组, 差异有统计学意义(66.7% *vs* 53.3%, $P = 0.005$, OR = 1.75, 95%CI: 1.18-2.60). UC组与正常对照组+788G/A位点等位基因和基因型频率比较, 差异无统计学意义(表1).

表 1 溃疡性结肠炎和正常对照者*PTPN22*基因–1123G/C和+788G/A等位基因和基因型频率分布 *n*(%)

	溃疡性结肠炎组	正常对照组
n	165	300
–1123G/C		
GG	55(33.3)	140(46.7)
GC	83(50.3)	119(39.7)
CC	27(16.4)	41(13.7)
GC+CC	110(66.7)	160(53.3)
G等位基因	193(58.5)	399(66.5)
C等位基因	137(41.5)	201(33.5)
+788G/A		
GG	165(100.0)	300(100.0)
GA	0(0.0)	0(0.0)
AA	0(0.0)	0(0.0)
G等位基因	330(100.0)	600(100.0)
A等位基因	0(0.0)	0(0.0)

表 2 *PTPN22*基因–1123G/C基因型与UC患者临床表型的相关性 *n*(%)

溃疡性结肠炎临床表型	–1123G/C基因型	
	GG	CC+GC
n	55	110
性别		
男	33(60.0)	62(56.4)
女	22(40.0)	48(43.6)
年龄(岁)		
< 40	29(52.7)	45(40.9)
≥ 40	26(47.3)	65(59.1)
病变范围		
直肠炎	22(40.0)	33(30.0)
左半结肠炎	23(41.8)	39(35.5)
广泛性结肠炎	10(18.2)	38(34.5)
肠外表现		
有	10(18.2)	14(12.7)
无	45(81.8)	96(87.3)
药物治疗		
柳氮磺吡啶/5–氨基水杨酸	40(72.7)	84(76.4)
激素	22(40.0)	36(32.7)
免疫抑制剂	1(1.8)	3(2.7)
手术	0(0.0)	1(0.9)

■创新盘点

*PTPN22*基因-1123G/C位点C等位基因频率与我国湖北汉族UC显著相关, 且-1123G/C位点C等位基因携带者频率与广泛性结肠炎相关, 提示携带C等位基因的人群罹患UC的风险增大.

2.2 *PTPN22*基因-1123G/C多态性与UC临床表型的关系 如表2所示, 在*PTPN22*基因-1123G/C多态性与UC患者性别、年龄、病变范围、肠外表现及治疗情况的相关分析中, 仅仅显示-1123G/C多态性与UC病变范围相关, 在UC患者中, 与GG基因型相比, “GC+CC”基因型中发生广泛性结肠炎患者频率显著增高, 差异有统计学意义(P = 0.029, OR = 2.38, 95%CI: 1.08-5.23).

2.3 UC患者肠黏膜PTPN22 mRNA的水平 与缓解期UC患者(n = 14)比, 活动期UC患者(n = 43)肠黏膜PTPN22 mRNA水平显著增高, 差异有统计学意义(t = -5.613, P = 0.005, 图2).

2.4 UC患者肠黏膜PTPN22 mRNA水平与-1123G/C多态性的相关性 肠黏膜PTPN22 mRNA表达水平与-1123G/C多态性无关(P> 0.05, 图3).

3 讨论

我们研究表明, *PTPN22*基因-1123G/C位点C等位基因频率与我国湖北汉族UC相关, 且UC患者中-1123G/C位点C等位基因携带者(即GC+CC基因型)频率与广泛性结肠炎相关, 而UC组与正常对照组*PTPN22*基因+788G/A位点等位基因和基因型频率分布无显著差别. UC患者广泛型结肠炎被认为是相对较严重的一种临床表型, 与其他病变范围相比, 广泛性结肠炎患者发生消化不良、结肠切除术甚至结肠癌的几率相对增高. 这些现象提示携带C等位基因的人群罹患UC的风险可能会增大. 研究提示, 与正常对照者比, 类风湿关节炎患者*PTPN22*基因-1123G/C位点C等位基因频率显著增高[12]. Liu等[6]研究显示, *PTPN22*基因-1123G/C位点GC基因型频率明显高于对照者. Kawasaki等[13]研究发现*PTPN22*基因-1123G/C多态性与日本1型糖尿病显著相关, 这些均支持我们的结论, 提示*PTPN22*基因可能参与UC的发病.

*PTPN22*基因定位于人染色体1p13，编码淋巴特异性酪氨酸磷酸酶LYP, 研究报道, LYP参与T细胞信号转导, 下调T细胞活化, 抑制T细胞介导的自身免疫反应, 是重要的T细胞活化负性调节因子[3], 而T细胞过度活化在UC发病中起重要作用, 因此*PTPN22*基因的异常表达可能在UC发病中起一定作用. 我们采用实时定量PCR方法检测UC患者肠黏膜PTPN22 mRNA的表达, 结果显示PTPN22 mRNA表达水平与UC疾病活动性相关, 与缓解期UC患者比，活动期UC患者肠黏膜PTPN22 mRNA表达水平显著增高. Ronninger等[14]研究报道, 在类风湿性关节炎患者中, 其外周血单个核细胞PTPN22 mRNA的表达水平明显高于正常对照者, 且另有研究显示类风湿性关节炎患者mRNA表达水平与疾病的自身抗原

■应用要点

分析*PTPN22*基因-1123G/C多态性与湖北地区汉族人UC的相关性, 有助于对本地区UC发生的病因学进行深入研究, 对罹患UC的高危人群进行预防及靶向治疗提供潜在的理论依据.

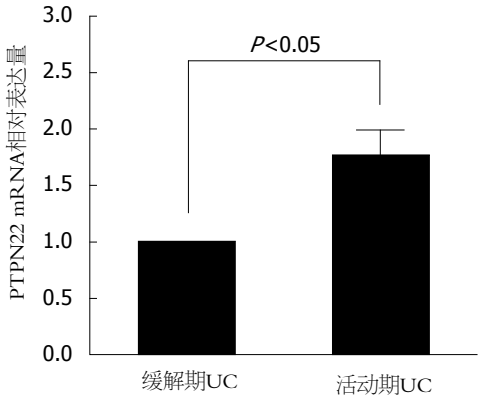


图 2 UC患者肠黏膜PTPN22 mRNA的表达水平. 缓解期UC患者肠黏膜PTPN22 mRNA的表达水平被标准化到1.0. 活动期UC患者肠黏膜PTPN22 mRNA水平显著高于缓解期UC患者(P<0.05). UC: 溃疡性结肠炎.

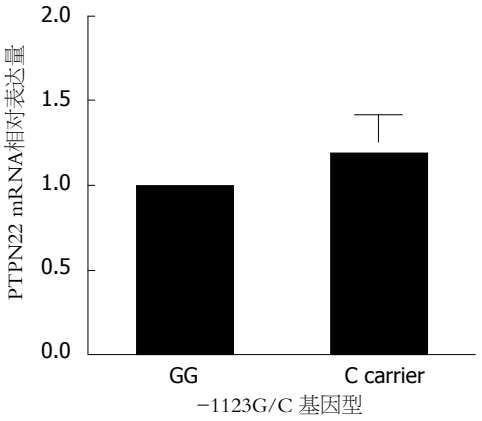


图 3 UC患者肠黏膜PTPN22 mRNA表达水平与−1123G/C多态性的关系. GG基因型肠黏膜PTPN22 mRNA的表达水平被标准化到1.0. UC患者肠黏膜PTPN22 mRNA表达水平与−1123G/C多态性无关(P>0.05). UC: 溃疡性结肠炎.

浓度正相关[15]. UC患者肠黏膜PTPN22 mRNA表达水平增高的具体原因不明, 可能与多种因素有关: (1)T细胞过度活化导致PTPN22 mRNA表达相应增高[3]; (2)除了T细胞, 尚存在其他细胞亦可表达PTPN22蛋白[3]; (3)PTPN22 mRNA表达水平可能与遗传变异及疾病的免疫学状态相关等[2].

研究发现*PTPN22*基因-1123G/C位点所在的DNA序列与转录因子激活蛋白4(activated protein4, AP-4)的结合位点相匹配, 后者属螺旋-环-螺旋拉链结构家族, 结合转录因子反义链. -1123G/C位点位于AP-4结合序列的中心基序区域[16]. 为探讨启动子区多态性是否调节mRNA表达水平, 我们分析了UC患者*PTPN22*基因-1123G/C位点多态性与PTPN22 mRNA表达水平的差别, 结果显示UC患者-1123G/C位点多态性与PTPN22 mRNA表达水平无关. 而Viken等[5]研究报道*PTPN22*基因-1123G/C多态性可以调节类风湿性关节炎患者PBMCs中PTPN22 mRNA的表达水平. 出现这种差异结果的原因可能与下列因素有关: (1)该研究中我们的样本量偏小, 可能尚未达到分辨mRNA细微表达差别的检测能力; (2)PTPN22 mRNA不仅表达于T细胞, 还表达于B细胞、单核细胞及中性粒细胞等[3]. 我们所检测的PTPN22 mRNA来源于肠黏膜总RNA, 而这种受基因突变调节的mRNA的表达可能仅限于某种T细胞亚群[2].

我们的研究提示*PTPN22*基因启动子区-1123G/C多态性与我国湖北汉族UC相关, 且与广泛性结肠炎相关. 提示*PTPN22*基因可能参与UC的遗传免疫学发表机制.

4 参考文献

1 Xavier RJ, Podolsky DK. Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature* 2007; 448: 427-434 [PMID: 17653185 DOI: 10.1038/nature06005]

2 Zhang J, Zahir N, Jiang Q, Miliotis H, Heyraud S, Meng X, Dong B, Xie G, Qiu F, Hao Z, McCulloch CA, Keystone EC, Peterson AC, Siminovitch KA. The autoimmune disease-associated PTPN22 variant promotes calpain-mediated Lyp/Pep degradation associated with lymphocyte and dendritic cell hyperresponsiveness. *Nat Genet* 2011; 43: 902-907 [PMID: 21841778 DOI: 10.1038/ng.904]

3 Behrens TW. Lyp breakdown and autoimmunity. *Nat Genet* 2011; 43: 821-822 [PMID: 21874033 DOI: 10.1038/ng.914]

4 Stanford SM, Mustelin TM, Bottini N. Lymphoid tyrosine phosphatase and autoimmunity: human genetics rediscovers tyrosine phosphatases. *Semin Immunopathol* 2010; 32: 127-136 [PMID: 20204370 DOI: 10.1007/s00281-010-0201-4]

5 Viken MK, Olsson M, Flåm ST, Førre O, Kvien TK, Thorsby E, Lie BA. The PTPN22 promoter polymorphism -1123G& gt; C association cannot be distinguished from the 1858C& gt; T association in a Norwegian rheumatoid arthritis material. *Tissue Antigens* 2007; 70: 190-197 [PMID: 17661906 DOI: 10.1111/j.1399-0039.2007.00871.x]

6 Liu F, Liu J, Zheng TS, Li Q, Wang C, Pan XP, Lu H, Zhao YW. The -1123G& gt; C variant of PTPN22 gene promoter is associated with latent autoimmune diabetes in adult Chinese Hans. *Cell Biochem Biophys* 2012; 62: 273-279 [PMID: 21956362 DOI: 10.1007/s12013-011-9291-4]

7 Diaz-Gallo LM, Espino-Paisán L, Fransen K, Gómez-García M, van Sommeren S, Cardeña C, Rodrigo L, Mendoza JL, Taxonera C, Nieto A, Alcain G, Cueto I, López-Nevot MA, Bottini N, Barclay ML, Crusius JB, van Bodegraven AA, Wijmenga C, Ponsioen CY, Gearry RB, Roberts RL, Weersma RK, Urcelay E, Merriman TR, Alizadeh BZ, Martin J. Differential association of two PTPN22 coding variants with Crohn's disease and ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 2287-2294 [PMID: 21287672 DOI: 10.1002/ibd.21630]

8 中华医学会消化病学分会炎症性肠病协作组. 我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见. 中华内科杂志 2008; 47: 73-79
9 Huang JJ, Qiu YR, Li HX, Sun DH, Yang J, Yang CL. A PTPN22 promoter polymorphism -1123G& gt; C is associated with RA pathogenesis in Chinese. *Rheumatol Int* 2012; 32: 767-771 [PMID: 21193990 DOI: 10.1007/s00296-010-1705-x]
10 Chang HH, Tai TS, Lu B, Iannaccone C, Cernadas M, Weinblatt M, Shadick N, Miaw SC, Ho IC. PTPN22.6, a dominant negative isoform of PTPN22 and potential biomarker of rheumatoid arthritis. *PLoS One* 2012; 7: e33067 [PMID: 22427951 DOI: 10.1371/journal.pone.0033067]
11 Chen Z, Brant SR, Li C, Shrestha UK, Jiang T, Zhou F, Jiang Y, Shi X, Zhao Y, Li J, Xia B. CTLA4 -1661A/G and 3'UTR long repeat polymorphisms are associated with ulcerative colitis and influence CTLA4 mRNA and protein expression. *Genes Immun* 2010; 11: 573-583 [PMID: 20445568 DOI: 10.1038/gene.2010.16]
12 Feng X, Li YZ, Zhang Y, Bao SM, Tong DW, Zhang SL, Hu CJ. Association of the PTPN22 gene (-1123G & gt; C) polymorphism with rheumatoid arthritis in Chinese patients. *Tissue Antigens* 2010; 76: 297-300 [PMID: 20604892 DOI: 10.1111/j.1399-0039.2010.01521.x]
13 Kawasaki E, Awata T, Ikegami H, Kobayashi T, Maruyama T, Nakanishi K, Shimada A, Uga M, Kurihara S, Kawabata Y, Tanaka S, Kanazawa Y, Lee I, Eguchi K. Systematic search for single nucleotide polymorphisms in a lymphoid tyrosine phosphatase gene (PTPN22): association between a promoter polymorphism and type 1 diabetes in Asian populations. *Am J Med Genet A* 2006; 140: 586-593 [PMID: 16470599 DOI: 10.1002/ajmg.a]
14 Ronninger M, Guo Y, Shchetynsky K, Hill A, Khademi M, Olsson T, Reddy PS, Seddighzadeh M, Clark JD, Lin LL, O'Toole M, Padyukov L. The balance of expression of PTPN22 splice forms is significantly different in rheumatoid arthritis patients compared with controls. *Genome Med* 2012; 4: 2 [PMID: 22264340 DOI: 10.1186/gm301]
15 黄建军. PTPN22-1123G > C与广东地区人群RA易感性及血清学指标的关联性研究. 南方医科大学, 2010: 1-68
16 Jüliger S, Bongartz M, Luty AJ, Kremsner PG, Kun JF. Functional analysis of a promoter variant of the gene encoding the interferon-gamma receptor chain I. *Immunogenetics* 2003; 54: 675-680 [PMID: 12557053 DOI: 10.1007/s00251-002-0516-y]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

■同行评价
本文具有较好的创新性, 内容较有逻辑性和条理性, 有一定指导意义.

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

本刊讯 2011-12-02, 中国科学技术信息研究所在北京发布2010年中国科技论文统计结果, 经过中国精品科技期刊遴选指标体系综合评价, 《世界华人消化杂志》被评为2011年度中国精品科技期刊. 中国精品科技期刊以其整体的高质量示范作用, 带动我国科技期刊学术水平的提高. 精品科技期刊的遴选周期为三年. (《世界华人消化杂志》编辑部)

世界华人消化杂志 2013年5月28日; 21(15): 1468-1472
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

幽门螺杆菌感染与克罗恩病的关系

崔德军, 杨 敏, 朱 敏, 李 宇

■背景资料
克罗恩病(Crohn's disease, CD)是一种病因不很清楚的慢性非特异性炎性疾病. 近来认为胃肠道微生物与机体的相互作用在CD发病中起着重要作用. 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是消化道常见的感染细菌之一, 与CD的关系存在争议.

崔德军, 杨敏, 朱敏, 李宇, 贵州省人民医院消化内科 贵州省贵阳市 550002
崔德军, 博士, 副主任医师, 主要从事消化系疾病的基础与临床研究.
贵州省卫生厅科学技术基金资助项目, No. gzwkj2012-1-032
作者贡献分布: 此课题由崔德军与杨敏设计; 文献筛选与质量评价由崔德军、杨敏及李宇完成; 数据的提取和统计分析由崔德军与朱敏完成; 本论文写作由崔德军完成.
通讯作者: 崔德军, 副主任医师, 550002, 贵阳市中山东路83号, 贵州省人民医院消化内科. hxcuidj@163.com
收稿日期: 2013-03-08 修回日期: 2013-03-25
接受日期: 2013-04-07 在线出版日期: 2013-05-28

Relationship between *Helicobacter pylori* infection and Crohn's disease: A Meta-analysis

De-Jun Cui, Min Yang, Min Zhu, Yu Li

De-Jun Cui, Min Yang, Min Zhu, Yu Li, Department of Gastroenterology, Guizhou Provincial People's Hospital, Guiyang 550002, Guizhou Province, China
Supported by: the Science and Technology Foundation of Department of Health of Guizhou Province, No. gzwkj2012-1-032
Correspondence to: De-Jun Cui, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Guizhou Provincial People's Hospital, No. 83 East Zhongshan Road, Guiyang 550002, Guizhou Province, China. hxcuidj@163.com
Received: 2013-03-08 **Revised:** 2013-03-25
Accepted: 2013-04-07 **Published online:** 2013-05-28

Abstract

AIM: To evaluate the relationship between *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection and Crohn's disease (CD).

METHODS: Keyword and MeSH searches of Pubmed, Embase, the Cochrane Database, Science Citation Index, Full-text Database of Chinese Journals, the Database of Chinese Science Journals and Wanfang Database from January 2002 to December 2012 were performed to identify all available case-control studies. Two independent reviewers assessed studies for inclusion and exclusion based on methodological quality criteria, and then conducted Meta-analysis of the relative risk (RR) using Review Manager 5.2 software.

RESULTS: Thirteen case-control studies were included, involving 938 patients with CD and 65918 controls. Compared to the control group, the estimated RR of *H. pylori* infection in CD patients was 0.54 (95%CI: 0.42-0.70, $P < 0.05$).

CONCLUSION: There is a negative association between *H. pylori* infection and CD. *H. pylori* infection may have a protective effect against the development of CD.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Crohn's disease; Meta-analysis

Cui DJ, Yang M, Zhu M, Li Y. Relationship between *Helicobacter pylori* infection and Crohn's disease: A Meta-analysis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(15): 1468-1472 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1468.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i15.1468

摘要

目的: 探讨幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染与克罗恩病(Crohn's disease, CD)的关系.

方法: 用关键词或主题词检索Pubmed, Embase, Cochrane图书馆, ISI数据库, 中国期刊全文数据库, 中文科技期刊数据库, 万方数据库以获得相关病例对照研究, 检索时间从2002-01/2012-12. 根据纳入和排除标准由两名研究者独立进行文献质量评价, 使用Review Manager 5.2统计软件进行Meta分析, 效应量为相对危险度(relative risk, RR).

结果: 共纳入13个病例对照研究, 包括938例CD患者和65918例对照.与对照组相比, CD患者*H. pylori*感染率的RR值为0.54, 95%CI: 0.42-0.70, $P<0.05$.

结论: *H. pylori*感染与CD呈负相关. *H. pylori*可能对CD有保护作用.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 幽门螺杆菌; 克罗恩病; Meta分析

■同行评议者
杜奕奇, 副教授, 中国人民解放军第二军医大学长海医院; 江学良, 教授, 主任医师, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

核心提示: 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染与克罗恩病(Crohn's disease, CD)呈负相关. *H. pylori*可能对CD有保护作用.

崔德军, 杨敏, 朱敏, 李宇. 幽门螺杆菌感染与克罗恩病的关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(15): 1468-1472 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1468.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i15.1468

0 引言

克罗恩病(Crohn's disease, CD)是一种病因不十分清楚的胃肠道慢性、非特异性炎性肉芽肿性疾病. CD常反复发作, 迁延不愈. 其发病率呈逐步增高趋势, 成为消化系常见病. 目前多认为CD的发病涉及遗传、感染、免疫、环境等方面. 其中胃肠道微生物与机体免疫系统的相互作用在CD发病中起着重要作用[1]. 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是胃内一种常见的革兰氏阴性微需氧菌, 可调节免疫反应[2]. 临床研究发现抗*H. pylori*治疗的地区炎症性肠病发病率增加[3], 但*H. pylori*与CD的关系仍存在争议, 有待进一步研究证实[4]. 因而, 本研究采用Meta分析的方法, 定量评价*H. pylori*与CD的关系, 以期为CD的发病机制研究和干预提供线索和证据.

1 材料和方法

1.1 材料 计算机检索PubMed, Embase, Cochrane图书馆, ISI数据库, CNKI, VIP, 万方数据库,另外利用google学术搜索引擎检索, 检索时限为2002-01至2012-12. 限中文和英文. 手工检索相关文献的参考文献和重要胃肠病会议的摘要. 英文检索词: Crohn's disease、inflammatory bowel disease和*Helicobacter pylori*; 中文检索词: 克罗恩病, 炎症性肠病, 幽门螺杆菌.

1.2 方法

1.2.1 纳入与排除标准: (1)纳入标准: 纳入公开发表的研究*H. pylori*与CD关系的病例对照研究和队列研究.研究对象为确诊CD的患者, 性别、年龄、人种和国籍等不限. 文献的统计方法准确, 数据真实可靠. 暴露因素为*H. pylori*. 结局测量指标为*H. pylori*阳性率. 排除标准: 排除重复发表的文献、提供数据不全和质量太差的文献.

1.2.2 质量评价: 根据纳入与排除标准由两名研究者独立进行文献质量评价, 遇分歧时由第三位研究者参与讨论并最终决定纳入文献与否. 按照Cochrane协作网提供的非随机对照试验研究质量评价标准进行文献质量评价[5]. 质量评价标准主要包括以下4个方面: (1)分配方法; (2)研究设计是否有平衡各组基线情况; (3)对影响预后因素的描述; (4)调节潜在偏倚的方法. 质量等级A级: 以上评价标准皆满足, 偏倚可能性最小; B级: 以上任何一条或多条质量评价标准仅部分满足, 存在中度偏倚可能性; C级: 其中任何一条或多条质量评价标准完全不满足, 存在高度偏倚可能性.

1.2.3 资料提取: 设计统一的资料提取表, 由两位研究者独立进行资料提取, 并交叉核对. 若遇分歧, 由第3位研究者参与讨论并最终解决分歧. 若数据缺失, 与文献作者联系以获取相关资料.

统计学处理 采用Cochrane协作网提供的RevMan 5.2软件进行Meta分析. 效应量为相对危险度(relative risk, RR), 并计算其95%可信区间(confidence interval, CI). 统计学异质性采用卡方检验(chi-square test, χ^2). 若$P>0.1$, $I^2\leq 50\%$时异质性不明显, 选用固定效应模型估计合并效应量; 若$P\leq 0.10$, $I^2>50\%$时异质性明显, 使用随机效应模型. 异质性过大时($I^2>75\%$)需要分析异质性来源, 进行亚组分析、敏感性分析, 甚至放弃定量合成.合并效应量的检验用Z检验, $P\leq 0.05$有统计学意义. 纳入研究在9篇以上时采用倒漏斗图分析发表偏倚.

2 结果

2.1 文献检索流程和结果 通过文献检索, 初检出文献418篇. 剔重、阅读文题和摘要、阅读全文后最终纳入13篇文献[6-18]. 文献筛选流程和结果见图1.

2.2 纳入研究的基本特征和质量评价 纳入研究的13篇文献中, 中文文献2篇, 英文文献11篇.累计病例组938例, 对照组65918例. 研究人群分布广泛, 有发达国家人群和发展中国家人群.年龄分布宽, 有儿童和成人被纳入研究.对纳入的研究进行质量评价, 结果显示B级研究8个, C级研究5个. 各纳入研究的基本情况与质量等级详见表1.

2.3 Meta分析结果

2.3.1 *H. pylori*阳性率: 在938例CD患者中, *H. pylori*感染阳性人数为157例; 对照组65918例, *H. pylori*感染阳性人数为6369例. CD患者*H. pylori*阳性率在中国人群约为20.50%, 日本人群约为19.05%, 墨西哥人群约为57.14%, 巴西人群约为55.81%, 匈牙利人群约为13.73%, 美国人群约为7.49%, 意大利人群约为21.51%. 异质性检验显

■研发前沿
抗*H. pylori*治疗的地区CD发病率增加. 亟待开展不同基因型*H. pylori*感染与CD关系的基础和前瞻性临床研究.

■相关报道
Luther等采用系统评价方法发现*H. pylori*对炎症性肠病有保护作用可能. 刘亚芳等运用荟萃分析方法发现*H. pylori*在炎症性肠病中感染率低, 在CD中*H. pylori*感染率更低, *H. pylori*可能对炎症性肠病有保护作用.

■创新盘点

本文严格评价*H. pylori*感染与CD的关系, 纳入文献质量较高, 样本量大, 异质性较小, 统计效能较强. 本研究为CD的发病机制研究提供一定线索. 具有一定创新性.

表 1 各纳入研究基本情况和质量等级 (*n*)

纳入研究	年份	*H. pylori*检测方法	病例组	对照组	质量等级
Ando等[6]	2008	^{13}C-UBT	3/38	5/12	B
Furusu等[7]	2002	IgG/组织学检测	9/25	13/25	C
Garza-Gonz á lez等[8]	2010	IgG	12/21	51/75	C
Guslandi等[9]	2002	IgG	9/60	11/30	C
Lidar等[10]	2009	IgG	11/80	30/98	B
Oliveira等[11]	2006	IgG/^{13}C-UBT	24/43	46/74	B
Pascasio等[12]	2003	组织学检测	18/56	176/382	C
Piodi等[13]	2003	^{13}C-UBT	17/32	27/44	B
Pr ó nai等[14]	2004	^{13}C-UBT	7/51	78/200	B
Sonnenberg等[15]	2012	组织学检测	14/371	5660/64451	B
Zhang等[16]	2011	^{13}C-UBT	19/104	203/416	B
何晋德等[17]	2003	IgG	1/5	4/5	C
庞智等[18]	2009	IgG	13/52	65/106	B

H. pylori: 幽门螺杆菌; ^{13}C-UBT: ^{13}C-尿素呼气试验.

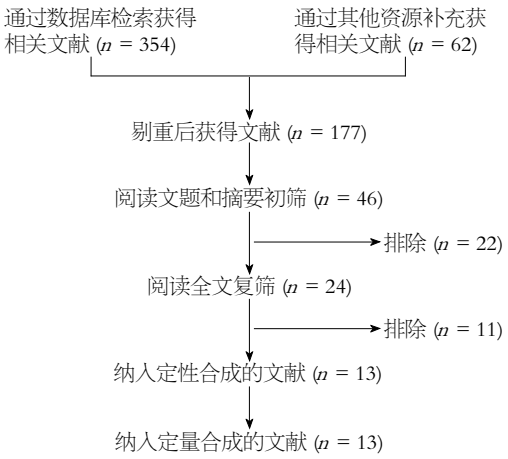


图 1 文献筛选流程和结果.

示各组间异质性差异有统计学意义(χ^2 = 33.54, *P*<0.10, I^2 = 64%), 采用随机效应模型分析. 结果显示, CD病例组*H. pylori*感染率低于对照组, 差异有统计学意义(RR = 0.54, 95%CI: 0.42-0.70, *P*<0.05)(图2).

剔除质量等级为C级的文献进行敏感性分析, 结果显示差异仍有统计学意义(RR = 0.49, 95%CI: 0.34-0.70, *P*<0.05). 表明Meta分析结果稳定性好. 对采用^{13}C-尿素呼气试验和组织学检测*H. pylori*的研究进行亚组分析, 结果显示RR = 0.49, 95%CI: 0.33-0.72, *P*<0.05. 对采用血清学检测*H. pylori*的研究进行亚组分析, 结果显示RR = 0.51, 95%CI: 0.34-0.76, *P* = 0.001, 结果稳定性好. 针对其他异质性可能来源, 分别进行亚组分析. 如CD诊断方法、CD类型(不同病理类型、部位、分期)、研究地点(东、西半球)、发达国家与发展中国家等, 未能找到异质性来源. 儿童*H. pylori*感染与CD关系的研究少, 未进行儿童相关研究的亚组分析.

2.3.2 发表偏倚: 采用RevMan 5.2软件绘制倒漏斗图(图3). 结果显示研究结果分布不对称, 表明存在发表偏倚可能.

3 讨论

*H. pylori*是消化系常见的感染细菌之一. *H. pylori*感染与CD之间的关系不十分清楚. 研究发现*H. pylori*可调节免疫反应, 如与叉头样转录因子p3(FOXp3)的高表达有关, 远离Th1/Th17反应, 下调树突状细胞促炎症反应, 与自体吞噬相关等[2,19,20], 对CD有保护作用. 流行病学研究发现*H. pylori*感染与CD呈负相关, 也有研究认为两者不相关. 因此, 本研究采用Meta分析方法, 评价*H. pylori*感染与CD的关系, 为CD的发病机制的进一步研究提供线索.

本研究共纳入13个病例对照研究, 有国内、国外研究, 累计样本量大. 不同人群*H. pylori*感染阳性率存在差异. 语言限中文和英文, 未纳入其他语种, 可能存在一定选择性偏倚. 纳入的研究为病例对照研究, 不可避免地受到多种因素的影响, 且纳入文献质量参差不齐, 有C级研究, 存在高度偏倚可能性. 各研究的*H. pylori*检测方法不完全一致, *H. pylori*血清学检测可能与其他细菌抗原有一定交叉反应, 可能出现假阳性. 各纳入研究CD诊断标准不完全一致, 可

Study or subgroup	病例组 Events	Total	对照组 Events	Total	Weight	Risk Ratio M–H, Ramdom, 95%CI
Ando等[6], 2008	3	38	5	12	3.0	0.19 [0.05, 0.68]
Furusu等[7], 2002	9	25	13	25	7.1	0.69 [0.36, 1.32]
Garza–Gonz á lez等[8], 2010	12	21	51	75	10.0	0.84 [0.56, 1.26]
Guslandi等[9], 2002	9	60	11	30	6.0	0.41 [0.19, 0.88]
Lidar等[10], 2009	11	80	30	98	7.3	0.45 [0.24, 0.84]
Oliveira等[11], 2006	24	43	46	74	11.0	0.90 [0.65, 1.24]
Pascasio等[12], 2003	18	56	176	382	10.1	0.70 [0.47, 1.04]
Piodi等[13], 2003	17	32	27	44	10.0	0.87 [0.58, 1.29]
Pr ó nai等[14], 2004	7	51	78	200	6.5	0.35 [0.17, 0.72]
Sonnenberg等[15], 2012	14	371	5660	64451	8.6	0.43 [0.26, 0.72]
Zhang等[16], 2011	19	104	203	416	9.8	0.37 [0.25, 0.57]
何晋德等[17], 2003	1	5	4	5	1.7	0.25 [0.04, 1.52]
庞智等[18], 2009	13	52	65	106	8.8	0.41 [0.25, 0.67]
Total (95%CI)		938		65918	100.0	0.54 [0.42, 0.70]
Total events	157		6369			

Heterogeneity: Tau^2 = 0.12; χ^2 = 33.54, *df* = 12 (*P* = 0.0008); I^2 = 64%

Test for overall effect: *Z* = 4.75 (*P*<0.00001)

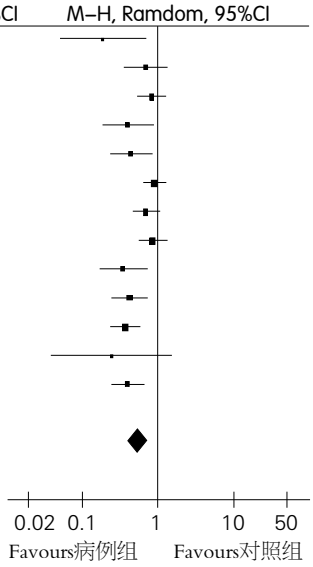


图 2 幽门螺杆菌感染与克罗恩病关系的Meta分析.

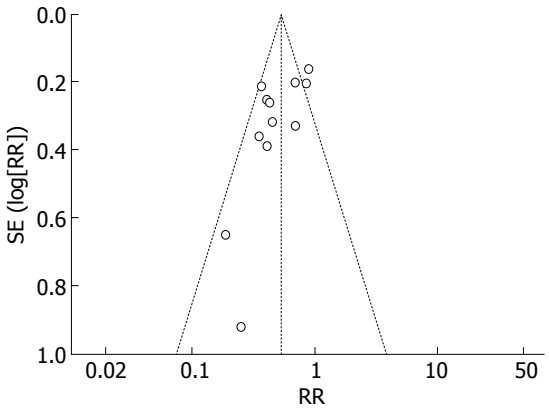


图 3 幽门螺杆菌感染与克罗恩病关系的漏斗图.

能出现选择性偏倚. Meta分析结果显示CD组*H. pylori*感染率低于对照组, *H. pylori*为CD低危险因素, *H. pylori*可能对CD有保护作用. 当然, 今后有必要研究不同基因型*H. pylori*感染与CD关系, 以区分有益*H. pylori*与有害*H. pylori*. 由于存在异质性,采用随机效应模型进行Meta分析. 敏感性分析显示结果稳定性好. 针对异质性可能来源进行亚组分析, 仍未能找到异质性来源. 儿童群体的用药等混杂因素少, 拟对儿童组进行亚组分析. 但有关儿童的研究少, 未能进行亚组分析. 倒漏斗图分析发现存在发表偏倚可能, 影响结果的可靠性. 本研究与Luther等[21]的研究结果相似, 但本研究只针对*H. pylori*感染与CD的研究, 异质性较小, 纳入最新临床研究, 样本量更大, 统计效能较强.

本研究纳入病例对照研究, 无前瞻性的研究, 论证强度有限. 病例对照研究为观察性研究, 病因推断能力不强. 由于存在混杂因素、各种偏倚, 研究结论具有一定局限性. 因而本研究仅提供初步的线索或证据. Meta分析为二次研究, 不可避免地会受到各种偏倚的影响, 故应该慎重对待本研究结论.

总之, 本荟萃分析表明*H. pylori*感染与CD呈负相关, 初步提示*H. pylori*可能对CD有保护作用. 由于存在方法学上的局限性, 应慎重对待本研究结论. 今后有必要在混杂因素较少的儿童群体中开展研究以及有必要开展不同基因型*H. pylori*与CD关系的研究.

■应用要点

本研究表明*H. pylori*感染与CD呈负相关, *H. pylori*可能对CD有保护作用. 本文为CD的研究以及抗*H. pylori*治疗的规范化提供一定证据.

4 参考文献

1 Abraham C, Medzhitov R. Interactions between the host innate immune system and microbes in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2011; 140: 1729-1737 [PMID: 21530739 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.02.012]

2 Luther J, Owyang SY, Takeuchi T, Cole TS, Zhang M, Liu M, Erb-Downward J, Rubenstein JH, Chen CC, Pierzchala AV, Paul JA, Kao JY. Helicobacter pylori DNA decreases pro-inflammatory cytokine production by dendritic cells and attenuates dextran sodium sulphate-induced colitis. *Gut* 2011; 60: 1479-1486 [PMID: 21471567 DOI: 10.1136/gut.2010.220087]

3 Thia KT, Loftus EV, Sandborn WJ, Yang SK. An update on the epidemiology of inflammatory bowel disease in Asia. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 3167-3182 [PMID: 19086963 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2008.02158.x]

4 张德奎, 甘华田. 炎症性肠病与感染. 国际消化病杂志 2007; 27: 440-442 [DOI: 10.3969/j.issn.1673-534X.2007.06.017]

5 Higgins JPT, Green S (editors). Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions Version

■同行评价
本文选题具有前沿性, 具有一定创新性. Meta分析方法和结论可靠, 对临床有重要参考价值.

5.0.0 [updated February 2008]. The Cochrane Collaboration, 2008 [DOI: 10.1002/9780470712184]

6 Ando T, Watanabe O, Ishiguro K, Maeda O, Ishikawa D, Minami M, Hasegawa M, Kondo S, Goto Y, Ohmiya N, Niwa Y, Goto H. Relationships between Helicobacter pylori infection status, endoscopic, histopathological findings, and cytokine production in the duodenum of Crohn's disease patients. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23 Suppl 2: S193-S197 [PMID: 19120897 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05438.x]

7 Furusu H, Murase K, Nishida Y, Isomoto H, Takeshima F, Mizuta Y, Hewlett BR, Riddell RH, Kohno S. Accumulation of mast cells and macrophages in focal active gastritis of patients with Crohn's disease. *Hepatogastroenterology* 2002; 49: 639-643 [PMID: 12063959]

8 Garza-González E, Pérez-Pérez GI, Mendoza-Ibarra SI, Flores-Gutiérrez JP, Bosques-Padilla FJ. Genetic risk factors for inflammatory bowel disease in a North-eastern Mexican population. *Int J Immunogenet* 2010; 37: 355-359 [PMID: 20518842 DOI: 10.1111/j.1744-313X.2010.00932.x]

9 Guslandi M, Fanti L, Testoni PA. Helicobacter pylori seroprevalence in Crohn's disease: lack of influence by pharmacological treatment. *Hepatogastroenterology* 2002; 49: 1296-1297 [PMID: 12239929]

10 Lidar M, Langevitz P, Barzilai O, Ram M, Porat-Katz BS, Bizzaro N, Tonutti E, Maieron R, Chowers Y, Bar-Meir S, Shoenfeld Y. Infectious serologies and autoantibodies in inflammatory bowel disease: insinuations at a true pathogenic role. *Ann N Y Acad Sci* 2009; 1173: 640-648 [PMID: 19758210 DOI: 10.1111/j.1749-6632.2009.04673.x]

11 Oliveira AG, Rocha GA, Rocha AM, Sanna Md, Moura SB, Dani R, Marinho FP, Moreira LS, Ferrari Mde L, Castro LP, Queiroz DM. Isolation of Helicobacter pylori from the intestinal mucosa of patients with Crohn's disease. *Helicobacter* 2006; 11: 2-9 [PMID: 16423084 DOI: 10.1111/j.0083-8703.2006.00368.x]

12 Pascasio JM, Hammond S, Qualman SJ. Recognition of Crohn disease on incidental gastric biopsy in childhood. *Pediatr Dev Pathol* 2003; 6: 209-214 [PMID: 12658540 DOI: 10.1007/s10024-002-0601-0]

13 Piodi LP, Bardella M, Rocchia C, Cesana BM, Baldassarri A, Quatrini M. Possible protective effect of 5-aminosalicylic acid on Helicobacter pylori infection in patients with inflammatory bowel disease. *J Clin Gastroenterol* 2003; 36: 22-25 [PMID: 12488702 DOI: 10.1097/00004836-200301000-00008]

14 Prónai L, Schandl L, Orosz Z, Magyar P, Tulassay Z. Lower prevalence of Helicobacter pylori infection in patients with inflammatory bowel disease but not with chronic obstructive pulmonary disease - antibiotic use in the history does not play a significant role. *Helicobacter* 2004; 9: 278-283 [PMID: 15165265]

15 Sonnenberg A, Genta RM. Low prevalence of Helicobacter pylori infection among patients with inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 35: 469-476 [PMID: 22221289 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04969.x]

16 Zhang S, Zhong B, Chao K, Xiao Y, Cui Y, Gao X, Chen B, He Y, Hu P, Chen M, Mitchell HM. Role of Helicobacter species in Chinese patients with inflammatory bowel disease. *J Clin Microbiol* 2011; 49: 1987-1989 [PMID: 21346040 DOI: 10.1128/JCM.02630-10]

17 何晋德, 刘玉兰, 叶辉, 张娇. 炎症性肠病患者幽门螺杆菌感染的血清学状况研究. 中华消化杂志 2003; 23: 254-255

18 庞智, 李美芬, 皇甫照, 周春立, 沈必武. 中国汉族炎症性肠病幽门螺杆菌感染状况分析. 世界华人消化杂志 2009; 17: 3661-3665

19 Rad R, Brenner L, Bauer S, Schwendy S, Layland L, da Costa CP, Reindl W, Dossumbekova A, Friedrich M, Saur D, Wagner H, Schmid RM, Prinz C. CD25+/Foxp3+ T cells regulate gastric inflammation and Helicobacter pylori colonization in vivo. *Gastroenterology* 2006; 131: 525-537 [PMID: 16890606 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.05.001]

20 Raju D, Hussey S, Ang M, Terebiznik MR, Sibony M, Galindo-Mata E, Gupta V, Blanke SR, Delgado A, Romero-Gallo J, Ramjeet MS, Mascarenhas H, Peek RM, Correa P, Streutker C, Hold G, Kunstmann E, Yoshimori T, Silverberg MS, Girardin SE, Philpott DJ, El Omar E, Jones NL. Vacuolating cytotoxin and variants in Atg16L1 that disrupt autophagy promote Helicobacter pylori infection in humans. *Gastroenterology* 2012; 142: 1160-1171 [PMID: 22333951 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.01.043]

21 Luther J, Dave M, Higgins PD, Kao JY. Association between Helicobacter pylori infection and inflammatory bowel disease: a meta-analysis and systematic review of the literature. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 1077-1084 [PMID: 19760778 DOI: 10.1002/ibd.21116]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2013年5月28日; 21(15): Ⅰ-Ⅴ
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《世界华人消化杂志》投稿须知

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊.

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569)》是一份同行评议和开放获取期刊(Open Access Journal, OAJ), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版. 《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区.

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病学, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章. 最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病学实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平.

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group, BPG)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上. OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊. 论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本. BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑.目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平.

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录. 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号. 《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊.

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

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals). 见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47.

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称. 医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文. 公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录.

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等. 为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上. 中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤). 通常应小写.

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

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量. 如 30 kD改为M_r 30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即A_r(A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体). 计量单位在+、－及-后列出. 在±前后均要列出, 如37.6 ℃±1.2 ℃, 45.6岁±24岁, 56.4 d±0.5 d. 3.56±0.27 pg/ml应为3.56 ng/L±0.27 ng/L. BP用kPa(mmHg), RBC数用1×10^{12}/L, WBC数用1×10^{9}/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. M_r明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm×6 cm×4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO_2结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1×10^{-3} g与5×10^{-7} g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg•d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO_2, 50 mL/L CO_2; 1∶1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45×10^{-6}; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示.

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ^2; (4)样本的

相关系数用英文小写r; (5)自由度用希文小写υ; (6)样本数用英文小写n; (7)概率用英文斜体大写P. 在统计学处理中在文字叙述时平均数±标准差表示为mean±SD, 平均数±标准误为mean±SE. 统计学显著性用$^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套P值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第三套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L±0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6 347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的mean±SD应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g±420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg±0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm±0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48→23.5→24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母≤100, 百分数到个位; 101≤分母≤1 000, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名，按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wcjd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版.

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致.

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号. 格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”.

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码. 例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致.

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象. 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度. 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征. 如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准. 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写*P*, 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值).

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 正文内序号连排用(1), (2), (3). 以下逐条陈述.

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系.

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可.

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论.

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾.

图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …. 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: $^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第3套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$. *P*值后注明何种检验及其具体数字, 如$P<0.01$, $t = 4.56$ *vs* 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用*t*/min, *c*/(mol/L), *p*/kPa, *V*/mL, *t*/℃表达.

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上

角注码号. 如马连生[1]报告……, 潘伯荣等[2-5]认为……; PCR方法敏感性高[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部),书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp

4.2 研究原著写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp

4.3 焦点论坛写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp

4.4 文献综述写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp

4.5 研究快报写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp

4.6 临床经验写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcjy.asp

4.7 病例报告写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx. 无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投稿须知下载网址http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf. 审稿过程平均时间需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审.

6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删节时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有.

《世界华人消化杂志》编辑部
北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号
远洋国际中心D座903室
电话: 010-5908-0035
传真: 010-8538-1893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http: //www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、**作者和读者**利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化**方向迈进**.

世界华人消化杂志 2013年5月28日; 21(15): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26
美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会
会议地点: 美国旧金山
联系方式: www.gicasym.org

2013-02-10/15
2013年肠道微生物组: 免疫网络效应/法规Keystone Symposia会议
会议地点: 美国
联系方式: info@keystonesymposia.org

2013-02-09/12
美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周(CNW 2013)
会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城
联系方式: http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508

2013-02-22/23
国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会
会议地点: 美国休斯顿
联系方式: http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1]

2013-02-22/23
迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议
会议地点: 美国
联系方式: cme.med.miami.edu/x88.xml

2013-03-01/31
2013年北京第七届疝和腹壁外科国际学术研讨会
会议地点: 北京市
联系方式: zhshfbwkzz@yahoo.com.cn

2013-03-01/04
2013加拿大消化疾病周(CDDW)
会议地点: 加拿大
联系方式: www.cag-acg.org/cddw

2013-03-07/10
亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议
会议地点: 新加坡
联系方式: www.apaslconference.org

2013-03-15/17
2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛
会议地点: 深圳市
联系方式: ewancool@hotmail.com

2013-03-14/16
中部外科学会(CSA)2013年会
会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛
联系方式: http://www.centralsurg.org/meeting/futuremtgs.html

2013-04-12/14
2013中国肛肠创新论坛(CICS)
会议地点: 北京市
联系方式: www.crdinnovation.com

2013-04-19/23
2013第2届国际肿瘤学论坛
会议地点: 瑞士
联系方式: cihexpo@163.com

2013-05-23/25
2013第六届世界癌症大会
会议地点: 西安市
联系方式: bithuiyi@163.com

2013-05-20/22
2013年第三届内分泌与代谢大会
会议地点: 西安市
联系方式: nancy@bitconferences.cn

2013-05-31/06-04
2013美国临床肿瘤协会年会
会议地点: 美国芝加哥
联系方式: yangxinxue999@163.com

2013-06-07/09
中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤营养与支持治疗学术会议
会议地点: 武汉市
联系方式: csonsc@VIP.163.com

2013-06-21/23
中国消化科学术论坛
会议地点: 张家界市
联系方式: casgmail@126.com

2013-07-13/14
中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会
会议地点: 银川市
联系方式: lilyjia@163.com

2014-09-26/30
第39届欧洲临床肿瘤学会年会
会议地点: 西班牙
联系方式: http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html

2013-10-18/20
第二十二届亚太抗癌大会
会议地点: 天津市
联系方式: secretariat@apcc2013.com

世界华人消化杂志 2013年5月28日; 21(15): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

白雪 副主任医师
中国人民解放军北京军区总医院普通外科

陈洪 主任医师
东南大学附属中大医院消化科

陈汝福 教授
中山大学第二附属医院肝胆胰外科

程英升 教授
同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心

崔莲花 副教授
青岛大学医学院公共卫生系

崔云甫 教授
哈尔滨医科大学第二附属医院普外一科

杜祥 教授
上海复旦大学附属肿瘤医院

高英堂 研究员
天津市第三中心医院

顾国利 副主任医师
中国人民解放军空军总医院普通外科

郭俊明 教授
宁波大学医学院生物化学与分子生物学研究所

何敏 教授
广西医科大学医学科学实验中心

姜波健 教授
上海交通大学医学院附属第三人民医院普通外科

李华 副教授
中山大学器官移植研究所, 中山大学附属第三医院肝脏移植中心

李瑜元 教授
广州市第一人民医院内科

刘长征 副教授
中国医学科学院基础医学研究所

刘成海 研究员
上海中医药大学附属曙光医院(东部)肝病研究所

刘连新 教授
哈尔滨医科大学第一临床医学院

彭亮 副主任医师
中山大学附属第三医院感染科

任粉玉 教授
延边大学附属医院消化内科

沈薇 教授
重庆医科大学附属第二医院消化内科

石毓君 副研究员
四川大学华西医院移植工程与移植免疫实验室

汤朝晖 副主任医师
上海交大医学院附属新华医院普外科

王德盛 副主任医师
中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆外科

王娅兰 教授
重庆医科大学基础医学院病理教研室

吴建兵 教授
南昌大学第二附属医院肿瘤科

徐健 副主任医师
深圳市慢性病防治中心

徐庆 教授
桂林医学院药理教研室

薛东波 教授
哈尔滨医科大学附属第一医院

殷正丰 教授
中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院

张进祥 副教授
华中科技大学同济医学院附属协和医院

世界华人消化杂志
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《**世界华人消化杂志**》入编《中文核心期刊要目总览》2011 年版（即第六版）之 **临床医学/特种医学类** 的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了 73 个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN 号、CN 号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被索量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web 下载量等 9 个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到 60 余种，统计到的文献数量共计 221177 余万篇次，涉及期刊 14400 余种。参加核心期刊评审的学科专家达 8200 多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出 1982 种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂

撰安

《中文核心期刊要目总览》2011 年版编委会

代章：

2012 年 1 月



百世登

Baishideng®

Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,
315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com



 © 2013 Baishideng. All rights reserved.

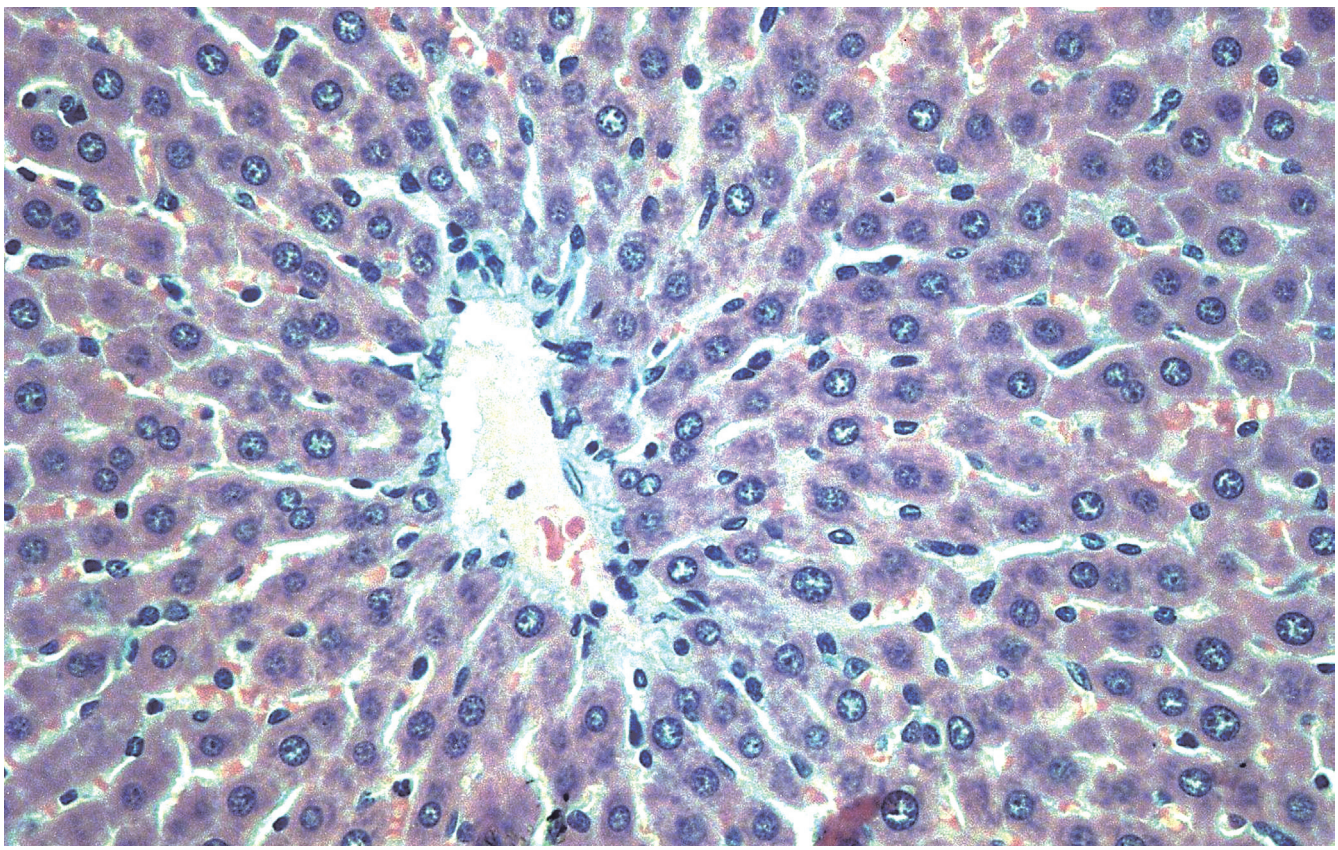
ISSN 1009-3079 (print)
ISSN 2219-2859 (online)

世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2013 年 6 月 8 日　第 21 卷　第 16 期　(Volume 21 Number 16)



16/2013

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

ISSN 1009-3079
9 771009 307056 16>

世界华人消化杂志
www.wjgnet.com
二零一三年六月八日
第二十一卷
第十六期

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

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

总顾问

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

名誉主编

潘伯荣教授

主编

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

编委

消化内科学

白爱平副教授
白岚教授
卜平教授
陈国忠主任医师
陈洪副教授
陈其奎教授
陈卫昌教授
陈贻胜教授
程斌教授
迟宝荣教授
崔立红教授
邓鑫教授
丁士刚教授
董蕾教授
杜雅菊主任医师
杜奕奇副教授
樊冬梅副主任医师
樊晓明教授
房静远教授
冯志杰主任医师
傅春彬主任医师
甘华田教授
高凌副教授
戈之铮教授
关玉盘教授
关晓辉主任医师
郭晓钟教授
郝建宇教授
郝丽萍副教授
何继满教授
何松教授
洪天配教授
黄培林教授
黄晓东主任医师
黄颖秋教授
黄缘教授
季国忠教授
江米足教授
姜春萌教授
姜慧卿教授
姜相君主任医师
金瑞教授
蓝宇教授
李淑德教授
李瑜元教授
李玉民教授
廖家智副主任医师
林志辉教授
刘冰熔教授
刘凤斌教授
刘改芳主任医师
刘海峰主任医师
刘海林主任医师
刘亮明副教授
陆伦根教授
马红主任医师
马欣主任医师
毛恩强教授
毛高平教授
孟庆华教授
缪应雷主任医师
倪润洲教授
欧希龙副教授
潘秀珍教授
潘阳林副教授
朴云峰教授
秦成勇教授
任粉玉教授
任建林教授
邵先玉教授
沈琳主任医师
沈薇教授
施瑞华教授
宋军副教授
唐世刚教授
田宇彬教授
度必光教授
宛新建副教授
王邦茂教授
王炳元教授
王承党教授
王江滨教授
王俊平教授
王蔚虹教授
王晓艳副教授
夏冰教授
夏时海副教授
徐灿霞教授
徐可树教授
杨建民教授
张国主任医师
姚树坤教授
张国梁主任医师
张军教授
张庆瑜教授
张小晋主任医师
张筱茵副教授
张志坚教授
郑培永教授
郑鹏远教授
郑素军副主任医师
郑勇教授
周国雄主任医师
周宇教授
邹晓平主任医师
诸琦教授
于珮主任医师

消化外科学

白雪副主任医师
白雪巍副主任医师
白玉作教授
蔡开琳副教授
蔡三军主任医师
曹杰主任医师
陈炳官教授
陈光教授
陈海龙教授
陈积圣教授
陈进宏副主任医师
陈凛教授
陈汝福教授
陈亚军主任医师
陈钟教授
程爱国教授
程树群副教授
崔云甫教授
戴朝六教授
戴冬秋教授
丁义涛教授
杜顺达副教授
房林教授
傅红副教授
傅华群教授
傅思源副教授
傅晓辉副教授
傅志仁主任医师
高毅主任医师
葛海燕教授
巩鹏副教授
谷俊朝主任医师
顾国利副主任医师
顾岩教授
韩天权教授
郝纯毅主任医师
郝立强副教授
何超教授
何向辉教授
何晓顺教授
何裕隆教授
胡安斌副教授
黄志勇教授
季加孚教授
荚卫东教授
姜波健教授
金山主任医师
康春博副主任医师
孔静副教授
黎乐群教授
李革副教授
李国威教授
李华副教授
李华山主任医师
李升平教授
李胜研究员
李涛副主任医师
李文岗教授
李小荣教授
李旭副教授
李永翔教授
李正荣副教授
李志霞教授
李宗芳教授
梁力建教授
刘宝林教授
刘超教授
刘宏鸣副教授
刘建教授
刘亮副主任医师
刘颖斌主任医师
卢军华教授
陆云飞教授
禄韶英副教授
吕凌副教授
吕云福教授
麻勇副研究员
齐清会教授
秦春宏副主任医师
秦华东教授
秦环龙教授
秦建民主任医师
邱伟华主任医师
仇毓东教授
崔清波副教授
单云峰副主任医师
沈柏用副教授
施宝民教授
施诚仁教授
施晓雷副主任医师
石毓君副研究员
宋新明教授
宋振顺教授
孙诚谊教授
孙文兵教授
孙星副教授
孙学英教授
邰升副教授
谭晓冬教授
汤朝晖副主任医师
汤绍涛教授
唐南洪教授

世界华人消化杂志®

编辑委员会

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

消化感染病学

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

消化中医药学

陈治水主任医师
杜群副研究员
扈晓宇主任医师
黄恒青主任医师
李军祥教授
李康副教授
李晓波教授
李勇副教授
李振华教授
刘成海研究员
刘绍能主任医师
鲁玉辉副教授
南极星教授
牛英才研究员
谭周进教授
王富春教授
王来友副教授
王笑民主任医师
邢建峰副教授
徐列明教授
许玲教授
徐庆教授
袁红霞研究员
张声生教授

消化肿瘤学

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

消化影像学

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

消化内镜及介入治疗学

郝俊鸣副主任医师
李家平教授
刘杰民副主任医师
茅爱武教授
孙明军教授
万军教授
吴沛宏教授
余日胜主任医师
袁友红副教授
张火俊副教授

消化中西医结合学

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

消化基础研究

曹洁副教授
曹鹏副研究员
陈敬贤教授
陈志龙教授
崔莲花副教授
段义农教授
樊红教授
高国全教授
高英堂研究员
管冬元副教授
郭长江研究员
郭俊明教授
何红伟副研究员
何敏教授
黄昆教授
黄文林教授
黄园教授
洪艳教授
李刚教授
李君文研究员
李孟森教授
李文贵副教授
李焱副研究员
李增山副教授
刘长征副教授
刘克辛教授
刘森副教授
宁钧宇副研究员
彭宗根副研究员
任超世研究员
任浩副教授
任晓峰副教授
邵华副主任药师
沈东炎副教授
沈涛副教授
斯坎德尔·白克力教授
台桂香教授
谭学瑞教授
汤静主管药师
滕旭副教授
田文静副教授
汪思应教授
王钦红教授
王书奎教授
魏继福研究员
文彬研究员
吴道澄教授
吴江锋副教授
吴军研究员
吴俊华副教授
吴志强副教授
夏敏教授
徐健副主任医师
徐宁志研究员
许文燮教授
杨晓明教授
阴赪宏研究员
郁卫东副研究员
喻荣彬教授
曾柱教授
张红教授
张淑坤副研究员
赵平教授
赵铁建教授
周南进研究员
周素芳教授
周晓武副主任医师
朱益民教授
竺亚斌研究员

消化病理学

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

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目　次 ●　2013 年 6 月 8 日　第 21 卷　第 16 期　(总第420期)

基础研究

1473 Nesfatin-1对大鼠胃酸分泌的影响
沙杰, 李学良, 朱明辉, 杨爱萍, 陈蕾

1480 葡萄籽寡聚体原花青素对大鼠酒精性肝损伤及脑功能障碍的保护作用
王萌, 马艺萍, 李亚伟, 魏婕, 张峻豪, 何佟, 陈世民

临床研究

1487 microRNA-183家族的表达在肝细胞癌临床诊断中的价值
邱历伟, 吴玮, 赛文莉, 杨君伶, 张海健, 顾星, 时运, 陆少林, 姚登福

文献综述

1493 ERCC1在食管癌顺铂化疗中的作用
赵洪礼, 韩莎, 李琳, 丁敬献, 杨景玉

1498 骨桥蛋白与肝癌转移复发关系的研究进展
孙静云, 徐吉敏, 严明, 叶放

1505 幽门螺杆菌*CagA*基因与消化系疾病关系的研究进展
游海梅, 胡团敏

研究快报

1511 孤束核、脊髓损毁后艾灸预处理对急性胃黏膜损伤大鼠PGE_2与EGF含量的影响
杨舟, 张国山, 刘密, 章海凤, 雷毅军, 常小荣, 郁保生

1516 有烟艾灸、无烟艾灸对急性胃黏膜损伤大鼠血清中SOD、MDA的影响
石佳, 张国山, 刘密, 刘未艾, 刘金芝, 常小荣

1522 光敏化姜黄素对人胃腺癌MGC-803细胞的影响及其在细胞内的分布
蓝宇涛, 旷焱平, 陈垦, 何博华, 迟作华, 王林静, 刘革修

1527 环巴胺对胃癌MKN45细胞株*VEGF*、*MMP-2*、*MMP-9*基因表达的影响
任雪萍, 张全安, 郑勤

临床经验

1533 转录因子在食管鳞癌基因表达中的调控作用
吴耀松, 陈玉龙, 尹素改, 王慧慧

1539 新疆哈萨克族食管癌的危险因素
李婧, 蔡金凤, 秦江梅

1544 食管癌淋巴结转移的危险因素
邢雪, 张志强, 温浩, 李秀娟

1549 内毒素和内皮素-1与急性胰腺炎患者并发急性肾损伤的关系
黄华兰, 聂鑫, 吴斌, 贺勇, 宋昊岚, 罗通行, 高宝秀, 李贵星

1554 超声造影在急性胰腺炎脾血管并发症诊断中的价值
蔡迪明, 罗燕, 李永忠, 万晋州, 张刚健, 陈娟, 曾聪, 宋彬

1559 急诊肠镜对结肠息肉电凝切除术后并发迟发性出血的诊疗价值
孙彩龙, 周兰芳, 金国文, 谢秀丽

1563 熊去氧胆酸预防溃疡性结肠炎癌变的Meta分析
崔德军, 黄博, 朱敏, 任映

1568 新疆伊犁地区上消化道疾病患者幽门螺杆菌感染率的相关因素
霍晓灵, 秦健, 张炜, 张文珍, 朱雪莲, 窦玉勤, 叶妮娜

附　　录	Ⅰ-Ⅴ　《世界华人消化杂志》投稿须知 Ⅰ　2013年国内国际会议预告
志　　谢	Ⅰ　志谢世界华人消化杂志编委
消　　息	1479　中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 1486　《世界华人消化杂志》修回稿须知 1504　《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 1510　《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 1515　《世界华人消化杂志》正文要求 1521　《世界华人消化杂志》出版流程 1526　中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 1532　《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 1538　《世界华人消化杂志》参考文献要求 1543　《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 1553　《世界华人消化杂志》栏目设置 1558　《世界华人消化杂志》外文字符标准 1572　*WJG*成功通过评审被PMC收录
封面故事	王萌, 马艺萍, 李亚伟, 魏婕, 张峻豪, 何佟, 陈世民. 葡萄籽寡聚体原花青素对大鼠酒精性肝损伤及脑功能障碍的保护作用. 世界华人消化杂志 2013; 21(16): 1480-1486 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1480.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1480
本期责任人	编务 车新鑫; 送审编辑 闫晋利, 鲁亚静; 组版编辑 闫晋利; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 黄新珍; 形式规范审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编辑 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平　题写封面刊名
陈可冀　题写版权刊名

(旬刊)

创　刊 1993-01-15
改　刊 1998-01-25
出　版 2013-06-08
原刊名 新消化病学杂志

期刊名称
世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

主编
程英升, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心
党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科
江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科
刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科
刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科
吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科
马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科
王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科
姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心
张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部
田滢, 主任
《世界华人消化杂志》编辑部
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室
电话: 010-59080035
传真: 010-85381893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

出版
百世登出版集团有限公司
Baishideng Publishing Group Co., Limited
Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

制作
北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室
电话: 010-85381892
传真: 010-85381893

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

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

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

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

定价
每期68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归Baishideng所有

World Chinese Journal of Digestology

June 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 16

BASIC RESEARCH

1473 Effect of Nesfatin-1 on gastric acid secretion in rats
Sha J, Li XL, Zhu MH, Yang AP, Chen L

1480 Oligomeric proanthocyanidins from grape seeds protect against alcohol-induced liver injury and cerebral dysfunction in rats
Wang M, Ma YP, Li YW, Wei J, Zhang JH, He T, Chen SM

CLINICAL RESEARCH

1487 Diagnostic value of expression of microRNA-183 family members in hepatocellular carcinoma
Qiu LW, Wu W, Sai WL, Yang JL, Zhang HJ, Gu X, Shi Y, Lu SL, Yao DF

REVIEW

1493 Role of ERCC1 in cisplatin resistance in esophageal cancer
Zhao HL, Han S, Li L, Ding JX, Yang JY

1498 Advances in understanding relationship between osteopontin and metastasis and recurrence of hepatocellular carcinoma
Sun JY, Xu JM, Yan M, Ye F

1505 Advances in understanding the relationship between the *Helicobacter pylori CagA* gene and diseases of the digestive system
You HM, Hu TM

RAPID COMMUNICATION

1511 Effect of moxibustion pretreatment on the contents of PGE_2 and EGF in gastric mucosal injury in rats after nucleus of the solitary tract or spinal cord damage
Yang Z, Zhang GS, Liu M, Zhang HF, Lei YJ, Chang XR, Yu BS

1516 Influence of smog moxibustion and non-smog moxibustion on serum SOD and MDA in rats with acute gastric mucosal injury
Shi J, Zhang GS, Liu M, Liu WA, Liu JZ, Chang XR

1522 Photoactivaed curcumin inhibits cell growth and promotes apoptosis in human gastric cancer cell line MGC-803
Lan YT, Kuang YP, Chen K, He BH, Chi ZH, Wang LJ, Liu GX

1527 Effect of cyclopamine on expression of *VEGF*, *MMP-2* and *MMP-9* in gastric cancer cell line MKN45
Ren XP, Zhang QA, Zheng Q

CLINICAL PRACTICE

1533 Role of transcription factors in regulation of gene expression in esophageal squamous cell carcinoma
Wu YS, Chen YL, Yin SG, Wang HH

1539 Risk factors for esophageal cancer in Kazakhs in Xinjiang Uygur Autonomous Region
Li J, Cai JF, Qin JM

1544 Potential risk factors for lymph node metastasis in esophageal cancer
Xing X, Zhang ZQ, Wen H, Li XJ

1549 Association of endotoxin and endothelin-1 with acute kidney injury in patients with acute pancreatitis
Huang HL, Nie X, Wu B, He Y, Song HL, Luo TX, Gao BX, Li GX

1554 Diagnostic value of contrast-enhanced ultrasound in detection of splenic vascular complications of acute pancreatitis
Cai DM, Luo Y, Li YZ, Wan JZ, Zhang GJ, Chen J, Zeng C, Song B

1559 Diagnostic and therapeutic value of emergency colonoscopy in delayed hemorrhage following colonic electrocoagulation resection of colorectal polyps
Sun CL, Zhou LF, Jin GW, Xie XL

1563 Ursodeoxycholic acid for preventing colorectal cancer in patients with ulcerative colitis: A meta-analysis
Cui DJ, Huang B, Zhu M, Ren Y

1568 Factors related to rate of *Helicobacter pylori* infection in patients with upper gastrointestinal tract diseases in Yili
Huo XL, Qin J, Zhang W, Zhang WZ, Zhu XL, Dou YQ, Ye NN

APPENDIX	I – V Instructions to authors of *World Chinese Journal of Digestology* I Meeting events calendar in 2013
ACKNOWLEDGMENT	I Acknowledgments to reviewers of *World Chinese Journal of Digestology*
COVER	*Wang M, Ma YP, Li YW, Wei J, Zhang JH, He T, Chen SM.* Protective effects of grape seed extract oligomeric proanthocyanidins in alcohol-induced liver injury and cerebral disfunction in rats. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(16): 1480-1486 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1480.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1480
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: *XinXin Che* Review Editor: *Jin-Li Yan, Ya-Jing Lu* Electronic Page Editor: *Jin-Li Yan* English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Editor-in-Charge: *Xin-Zhen Huang* Proof Editor: *Ying Tian* Layout Editor: *Lian-Sheng Ma*

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

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date June 8, 2013

NAME OF JOURNAL
World Chinese Journal of Digestology

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

EDITOR-IN-CHIEF
Ying-Sheng Cheng, Professor, Medical Imaging Center, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China
Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China
Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China
Lian-Xin Liu, Professor, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China
Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China
Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hang-zhou 310006, Zhejiang Province, China
Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China
Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China
Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China
Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

EDITORIAL OFFICE
Ying Tian, Director
World Chinese Journal of Digestology
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-59080035
Fax: +86-10-85381893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

PUBLISHER
Baishideng Publishing Group Co., Limited
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,
315-321 Lockhart Road, Wan Chai,
Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188
E-mail: bpg@baishideng.com
http://www.wjgnet.com

PRODUCTION CENTER
Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu,
Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-85381892
Fax: +86-10-85381893

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

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

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

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

世界华人消化杂志 2013年6月8日; 21(16): 1473-1479
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

Nesfatin-1对大鼠胃酸分泌的影响

沙 杰, 李学良, 朱明辉, 杨爱萍, 陈 蕾

沙杰, 朱明辉, 杨爱萍, 陈蕾, 靖江市人民医院消化科 江苏省泰州市 214500
李学良, 南京医科大学第一附属医院消化科 江苏省南京市 210029
沙杰, 副主任医师, 主要从事胃肠动力及消化系肿瘤早期诊治的研究.
国家自然基金资助项目, No. 81070308
泰州市科技发展计划基金资助项目, No. 2012
作者贡献分布: 此课题由沙杰与李学良共同设计; 研究过程由沙杰、朱明辉及杨爱萍操作完成; 研究所用试剂与分析工具由沙杰与李学良提供; 数据分析由沙杰与陈蕾合作完成; 本论文写作由沙杰完成; 李学良最终审定.
通讯作者: 李学良, 主任医师, 210029, 江苏省南京市广州路300号, 南京医科大学第一附属医院消化科. ligakur@yahoo.com.cn
电话: 025-83718836 传真: 025-83780711
收稿日期: 2013-03-09 修回日期: 2013-04-10
接受日期: 2013-04-27 在线出版日期: 2013-06-08

Effect of Nesfatin-1 on gastric acid secretion in rats

Jie Sha, Xue-Liang Li, Ming-Hui Zhu, Ai-Ping Yang, Lei Chen

Jie Sha, Ming-Hui Zhu, Ai-Ping Yang, Lei Chen, Department of Gastroenterology, Jingjiang People's Hospital, Taizhou 214500, China
Xue-Liang Li, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81070308; the Science and Technology Development Program of Taizhou, No. 2012
Correspondence to: Xue-Liang Li, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, 300 Guangzhou Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. ligakur@yahoo.com.cn
Received: 2013-03-09 Revised: 2013-04-10
Accepted: 2013-04-27 Published online: 2013-06-08

Abstract

AIM: To investigate the effect of Nesfatin-1 on gastric acid secretion in rats.

METHODS: Thirty-six male Sprague-Dawley rats were randomly and equally divided into six groups to receive intracerebroventricular injection of 0.05, 0.5 μg of Nesfatin-1 or sterile water and intravenous injection of 10, 50 μg/kg of Nesfatin-1 or sterile water. Gastric secretion was measured using the pylorus-ligation method. Three hours after treatment, rats were killed to remove the stomach and collect the gastric contents. The volume of gastric secretion was measured and the amount of gastric acid was determined by titration with NaOH. H^+-K^+-ATPase mRNA expression was detected by RT-PCR.

RESULTS: Intracerebroventricular infusion of 0.05 or 0.5 μg of Nesfatin-1 significantly reduced the volume of gastric juice (3.3 mL/3 h ± 0.3 mL/3 h *vs* 2.4 mL/3 h ± 0.3 mL/3 h; 3.3 mL/3 h ± 0.3 mL/3 h *vs* 2.5 mL/3 h ± 0.3 mL/3 h, both $P < 0.05$), inhibited gastric acid output (582.7 μmol/3 h ± 59.3 μmol/3 h *vs* 373.6 μmol/3 h ± 61.5 μmol/3h, 582.7 μmol/3 h ± 59.3 μmol/3h *vs* 380.0 μmol/3 h ± 55.8 μmol/3h, both $P < 0.05$), and decreased gastric H^+-K^+-ATPase mRNA expression (both $P < 0.05$). Intravenous injection of 10 or 50 μg/kg of Nesfatin-1 had no significant effect on the volume of gastric juice (3.7 mL/3 h ± 0.7 mL/3 h *vs* 3.3 mL/3 h ± 0.4 mL/3 h, 3.7 mL/3 h ± 0.7 mL/3 h *vs* 3.8 mL/3 h ± 0.5 mL/3 h, both $P > 0.05$), gastric acid output (647.6 μmol/3 h ± 102.8 μmol/3 h *vs* 573.8 μmol/3 h ± 97.4 μmol/3 h, 647.6 μmol/3 h ± 102.8 μmol/3 h *vs* 594.4 μmol/3 h ± 121.0 μmol/3 h, both $P > 0.05$) and gastric H^+-K^+-ATPase mRNA expression (both $P > 0.05$).

CONCLUSION: Nesfatin-1 acts in the central nervous system to inhibit gastric acid secretion in rats.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Nesfatin-1; Intracerebroventricular injection; Intravenous; Gastric acid

Sha J, Li XL, Zhu MH, Yang AP, Chen L. Effect of Nesfatin-1 on gastric acid secretion in rats. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(16): 1473-1479 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1473.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1473

摘要

目的: 探讨Nesfatin-1对大鼠胃酸分泌的影响.

方法: ♂SD大鼠36只, 随机分为6组, 分别在侧脑室注射Nesfatin-1(0.05 μg/只)、

■背景资料
本研究系在已知的Nesfatin-1摄食抑制功能的基础上进一步探索其对胃黏膜分泌功能的影响, 从而更进一步了解这个新发现的摄食调节肽的更多生理功能.

■同行评议者
姜相君, 主任医师, 青岛市市立医院消化科; 唐世刚, 教授, 湖南省人民医院

■研发前沿
通过本研究可以进一步增加对胃黏膜胃酸分泌调节机理的认识, 从而为消化科临床酸相关疾病的诊治提供更多的理论基础.

Nesfatin-1(0.5 μg/只)及等量的注射灭菌水(5 μL/只), 外周静脉注射Nesfatin-1(10 μg/kg)、Nesfatin-1(50 μg/kg)及等量的灭菌水(150 μL/只), 每组6只. 采用幽门结扎法收集胃液, 3 h后处死大鼠分别测定胃液胃酸分泌量, H^+-K^+-ATPase表达量.

结果: 侧脑室注射Nesfatin-1(0.05 μg/只及0.5 μg/只)后大鼠3 h胃液的分泌量分别为2.4 mL/3 h±0.3 mL/3 h、2.5 mL/3 h±0.3 mL/3 h, 与对照组(3.3 mL/3 h±0.3 mL/3 h)相比, 其分泌量明显减少, 差异具有统计学意义(P<0.05, n = 6). 侧脑室注射Nesfatin-1(0.05 μg/只及0.5 μg/只)后大鼠3 h胃酸的分泌量分别为373.6 μmol/3 h±61.5 μmol/3 h、380.0 μmol/3 h±55.8 μmol/3 h, 与对照组(582.7 μmol/3 h±59.3 μmol/3 h)相比, 其分泌量明显减少, 差异具有统计学意义(P<0.05, n = 6). 外周静脉注射Nesfatin-1(10 μg/kg及50 μg/kg)后大鼠胃液分泌量分别为3.3 mL/3 h±0.4 mL/3 h、3.8 mL/3 h±0.5 mL/3 h与对照组(3.7 mL/3 h±0.7 mL/3 h)相比差异无统计学意义(P>0.05, n = 6). 外周静脉注射Nesfatin-1(2 μg/只及10 μg/只)后大鼠胃酸分泌量分别为573.8 μmol/3 h±97.4 μmol/3 h、594.4 μmol/3 h±121.0 μmol/3 h与对照组(647.6 μmol/3 h±102.8 μmol/3 h)相比差异无统计学意义(P>0.05, n = 6). 侧脑室注射Nesfatin-1(0.05 μg/只及0.5 μg/只)后3 h大鼠胃H^+-K^+-ATPase mRNA表达明显下调(P<0.05). 外周静脉注射Nesfatin-1(10 μg/kg及50 μg/kg)后3 h大鼠胃H^+-K^+-ATPase mRNA表达与对照组相比差异无统计学意义(P>0.05).

结论: Nesfatin-1通过中枢注射可以明显抑制大鼠胃酸的分泌.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: Nesfatin-1; **脑室内注射; 静脉注射; 胃酸**

核心提示: 侧脑室注射Nesfatin-1可明显抑制大鼠胃液胃酸分泌, 而外周静脉注射Nesfatin-1对大鼠胃液胃酸分泌无明显影响, 提示Nesfatin-1通过中枢注射可以明显抑制大鼠胃酸的分泌.

沙杰, 李学良, 朱明辉, 杨爱萍, 陈蕾. Nesfatin-1对大鼠胃酸分泌的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(16): 1473-1479
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1473.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1473

0 引言

Nesfatin-1是一种新发现的厌食肽, 他来源于核组蛋白2(nueleobindin-2, NUCB2)N端的1-82氨基酸残基[1]. 在中枢Nesfatin-1主要分布于与摄食和代谢调节密切相关的一些核团, 如下丘脑的弓状核(arcuate nucleus, ARC)、视上核(supraoptic nucleus, SON)、室旁核(paraventricular nucles, PVN)、下丘脑外侧区(lateral hypothalamic area, LHA)以及脑干的迷走神经背核(dorsal motor nucleus of the vagus, DMV)孤束核(nucleus tractus solitarius, NTS)等, 这些核团通常被认为与摄食和代谢调节密切相关[1-4]. Nesfatin-1免疫阳性细胞在外周主要分布在胃黏膜内分泌型细胞, 胰岛及十二指肠布氏腺. Nesfatin-1在胃黏膜中大量与胃泌素共表达, 也有少部分与生长抑素及组胺共表达[5]. 这些结果提示Nesfatin-1可能参与了胃黏膜酸分泌功能的调节, 本研究通过侧脑室及外周静脉注射Nesfatin-1, 以探索其对大鼠胃黏膜泌酸功能的影响.

1 材料和方法

1.1 材料 ♂SD大鼠, 体质量200-250 g, 在明暗各12 h(06:00-18:00)周期, 21℃-23 ℃的室温环境中饲养, 侧脑室置管后予以单笼饲养, 实验前大鼠禁食24 h, 禁水2 h. 大鼠购自上海斯莱克实验动物有限公司; 饲料购自南京医科大学实验动物中心; 大鼠脑立体定位仪、大鼠颅钻、套管、套管芯、注射针均为深圳瑞沃德生命科技有限公司产品; 微量注射器为上海关正医疗仪器有限公司产品; Nesfatin-1购自Phoneix Pharmaceuticals公司.

1.2 方法

1.2.1 侧脑室置管: 在水合氯醛麻醉下(400 mg/kg, 腹腔内注射), 将大鼠固定在脑立体定位仪上, 右侧侧脑室置管(前囟点后0.8 mm, 右1.5 mm, 深3.5 mm)[6], 2枚不锈钢螺丝固定在套管两侧的颅骨上, 牙科水泥固定. 术后大鼠自由恢复7 d, 体质量不升者予以剔除, 实验结束后沿套管注入20 g/L的美蓝溶液, 取出脑组织, 脑室内壁均染色的大鼠数据为有效数据, 不合格的予以剔除.

1.2.2 分组及给药: 将大鼠随机分为6组, 分别侧脑室注射Nesfatin-1(0.05 μg/只)、Nesfatin-1(0.5 μg/只)及等量的灭菌水(5 μL/只), 阴茎背静脉注射Nesfatin-1(10 μg/kg)、Nesfatin-1(50 μg/kg)及等量的灭菌水(150 μL/只), 每组6只.

1.2.3 胃液收集: 采用幽门结扎法收集胃液[7]. 大鼠乙醚短暂麻醉, 沿腹中线剑突下切开一小口, 暴露幽门, 沿幽门括约肌丝线结扎, 关腹, 给予

侧脑室及外周静脉注射, 大鼠注射后约5 min清醒, 自由活动. 3 h后过量乙醚麻醉处死大鼠, 迅速取胃, 沿胃大弯剪开胃壁, 收集胃液, 胃组织-80 ℃冰箱速冻, 留作H^+-K^+-ATPase mRNA表达检测.

1.2.4 胃酸分泌量检测: 测量胃液分泌量后, 取1 mL胃液, 以1%酚红为指示剂, 用0.01 mol/L NaOH滴定至pH值为7.0(胃液刚变为粉红色, 且持续30 s不退色), 胃液量乘以胃液酸的浓度即为胃酸分泌量.

1.2.5 RT-PCR法检测胃组织中H^+-K^+-ATPase mRNA: 按TRIzol试剂说明提取各组织中总mRNA, 然后逆转录为cDNA, 以此cDNA为模板行PCR扩增. PCR反应条件: 预变性95 ℃ 5 min; 变性95 ℃ 45 s, 退火56 ℃ 30 s, 延伸72 ℃ 30 s 共32个循环; 终末延伸72 ℃ 10 min. PCR产物经3%琼脂糖凝胶电泳, 观察、拍照. H^+-K^+-ATPase上下游引物: 上游引物5'-CTCTGCTTTGC-GGGACTT-3'; 下游引物5'-CCTTGGCTGTGAT-GGGAT-3', 以Actin为内参照.

统计学处理 所有的测定值均以mean±SD表示, 采用SPSS11.5统计学软件行*t*检验和方差分析, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 Nesfatin-1侧脑室注射对大鼠胃液分泌的影响 侧脑室注射Nesfatin-1(0.05 μg/只及0.5 μg/只)后大鼠胃液分泌量分别为2.4 mL/3 h±0.3 mL/3 h、2.5 mL/3 h±0.3 mL/3 h, 对照组大鼠胃液分泌量为3.3 mL/3 h±0.3 mL/3 h. 侧脑室注射Nesfatin-1(0.05 μg/只、0.5 μg/只)均明显抑制了大鼠3 h胃液分泌量, 与对照组相比差异有统计学意义($P<0.05$, $n = 6$), 但两给药组之间, 即侧脑室注射Nesfatin-1(0.5 μg/只)与侧脑室注射Nesfatin-1(0.05 μg/只)后3 h大鼠的胃液分泌量相比差异无统计学意义($P>0.05$, $n = 6$)(图1A).

2.2 Nesfatin-1侧脑室注射对大鼠胃酸分泌的影响 侧脑室注射Nesfatin-1(0.05 μg/只及0.5 μg/只)后大鼠胃酸分泌量分别为373.6 μmol/3 h±61.5 μmol/3 h、380.0 μmol/3 h±55.8 μmol/3 h, 对照组大鼠胃酸分泌量为582.7 μmol/3 h±59.3 μmol/3 h. 侧脑室注射Nesfatin-1(0.05 μg/只及0.5 μg/只)均明显抑制了大鼠3 h胃酸的分泌量, 与对照组相比差异有统计学意义($P<0.05$, $n = 6$), 但两给药组之间, 即侧脑室注射Nesfatin-1(0.5 μg/只)与侧脑室注射Nesfatin-1(0.05 μg/只)后3 h大鼠的胃酸分泌量相比差异无统计学意义($P>0.05$, $n = 6$)(图1B).

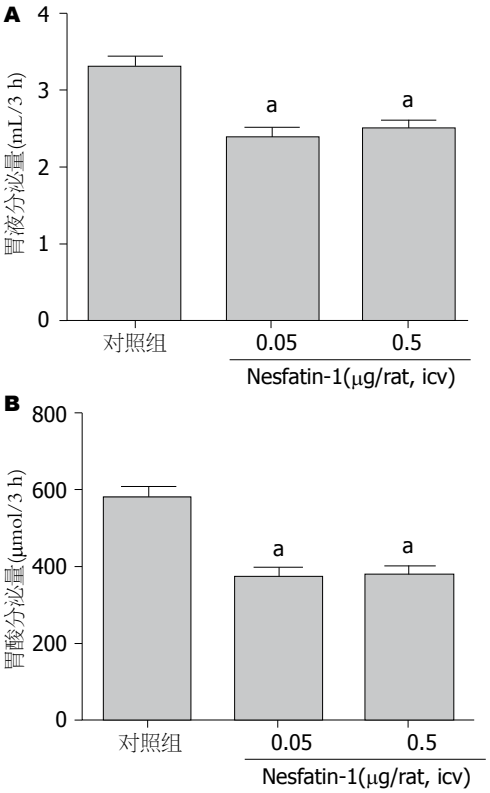


图 1 Nesfatin-1侧脑室注射对大鼠胃液和胃酸分泌的影响. A: 对大鼠胃液分泌的影响; B: 对大鼠胃酸分泌的影响. $^aP<0.05$ *vs* 对照组.

2.3 Nesfatin-1外周静脉注射对大鼠胃液分泌的影响 外周静脉注射Nesfatin-1(10 μg/kg及50 μg/kg)大鼠胃液分泌量分别为3.3 mL/3 h±0.4 mL/3 h、3.8 mL/3 h±0.5 mL/3 h, 对照组大鼠胃液分泌量为3.7 mL/3 h±0.7 mL/3 h. 外周静脉注射Nesfatin-1(10 μg/kg及50 μg/kg)与对照组相比, 大鼠3 h胃液分泌量差异无统计学意义($P>0.05$, $n = 6$)(图2A).

2.4 Nesfatin-1外周静脉注射对大鼠胃酸分泌的影响 外周静脉注射Nesfatin-1(10 μg/kg及50 μg/kg)大鼠胃酸分泌量分别为573.8 μmol/3 h±97.4 μmol/3 h、594.4 μmol/3 h±121.0 μmol/3 h, 对照组大鼠胃酸分泌量为647.6 μmol/3 h±102.8 μmol/3 h. 外周静脉注射Nesfatin-1(10 μg/kg及50 μg/kg)与对照组相比, 大鼠3 h胃酸分泌量差异无统计学意义($P>0.05$, $n = 6$)(图2B).

2.5 Nesfatin-1侧脑室注射对大鼠胃H^+-K^+-ATPase mRNA表达的影响 侧脑室注射Nesfatin-1(0.05 μg/只及0.5 μg/只)后3 h大鼠胃H^+-K^+-ATPase mRNA表达明显下调($P<0.05$)(图3).

2.6 Nesfatin-1外周静脉注射对大鼠胃H^+-K^+-

■相关报道
Nesfatin-1在大脑中与大量神经递质共表达. Nesfatin-1免疫阳性细胞在外周主要分布在胃黏膜内分泌型细胞, 胰岛及十二指肠布氏腺. Nesfatin-1在胃黏膜中大量与胃泌素共表达, 也有少部分与生长抑素及组胺共表达.

■创新盘点
本研究采用了侧脑室及外周静脉给药的方法, 从两个不同的方面来观察Nesfatin-1对大鼠胃酸分泌功能的影响.

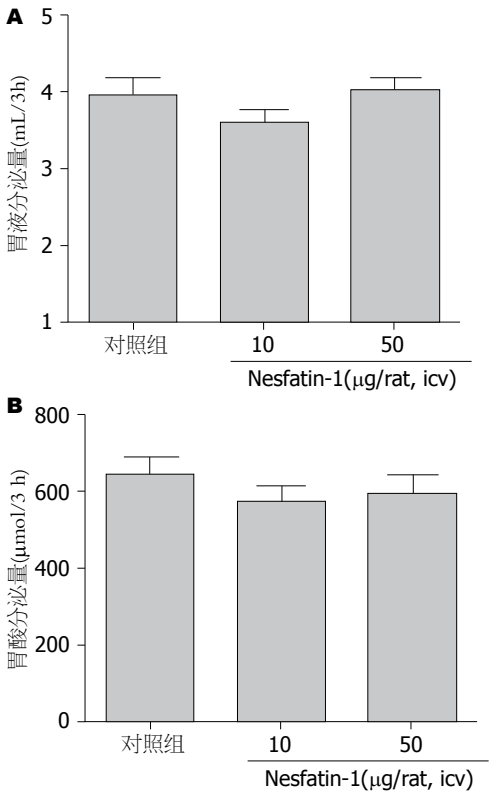


图 2 Nesfatin-1外周静脉注射对大鼠胃液和胃酸分泌无明显影响. A: 大鼠胃液分泌; B: 大鼠胃酸分泌.

ATPase mRNA表达的影响 外周静脉注射Nesfatin-1(10 μg/kg及50 μg/kg)后3 h大鼠胃H^+-K^+-ATPase mRNA表达与对照组相比差异无统计学意义(P>0.05)(图4).

3 讨论

Nesfatin-1是一种新发现的厌食肽, 他来源于NUCB2[1]. NUCB2是一个功能强大的分泌蛋白, 他在维持骨盐代谢和TNF抗体的生成过程中都具有重要的作用[8,9]. 侧脑室注入NUCB2后可以抑制大鼠摄食, 而侧脑室注射NUCB2反义寡核苷酸阻断内源性NUCB2后, 大鼠的摄食量增加[1,10-12]. 这些研究表明, NUCB2参与了大鼠摄食行为的生理调节. NUCB2在前激素酶的作用可以下裂解成3个片段: Nesfatin-1(1-82残基)、Nesfatin-2(85-163残基)和Nesfatin-3(166-396残基), 经侧脑室分别注射Nesfatin-1、Nesfatin-2和Nesfatin-3发现, 注射Nesfatin-1后可剂量依赖性地抑制自由饮食大鼠的摄食量和体质量增长, 而注射Nesfatin-2、Nesfatin2/3或Nesfatin-3的大鼠均未见到摄食抑制, 经侧脑室注射Nesfatin-1特异性的中和抗体后大鼠摄食量明显增加, 提示NUCB2裂解后的3种片段中仅Nesfatin-1具有抑制摄食的功能[1].

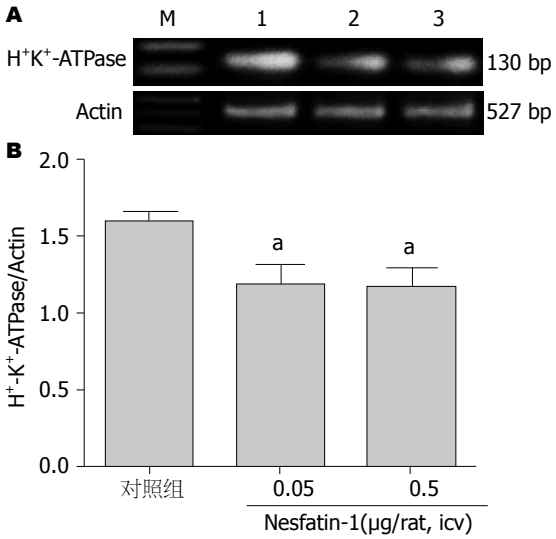


图 3 Nesfatin-1侧脑室注射对大鼠胃H^+-K^+-ATPase mRNA表达的影响. 1: 对照组; 2: Nesfatin-1 0.05 μg/rat icv; 3: Nesfatin-1 0.5 μg/rat icv. ^aP<0.05 *vs* 对照组.

在中枢, Nesfatin-1免疫阳性细胞存在于ARC、SON、PVN、LHA以及脑干的DMV、NTS)、EW和尾脊核中, 这些核团通常被认为与摄食和代谢调节密切相关[1-4]. Nesfatin-1侧脑室注射抑制了自由饮食大鼠的夜间摄食量, 而肾上腺皮质激素释放因子(CRF1/CRF2)抑制剂、CRF2抑制剂则使Nesfatin-1对大鼠的抑制摄食作用消失, 提示侧脑室注射Nesfatin-1是通过CRF2依赖途径而影响了自由饮食大鼠的夜间摄食量[13].

Nesfatin-1在大脑中与大量神经递质共表达, 如下丘脑加压素、催产素、促甲状腺激素释放激素、促肾上腺皮质激素释放激素、生长抑素、生长激素释放激素、黑色素激素、可卡因-苯丙胺调节转录肽; EW和DMV中的胆碱乙酰转移酶、NTS中的酪氨酸羟化酶、尾脊核中的5-羟色胺; 以及延髓儿茶酚胺A2细胞群等[2,4,14]. 提示Nesfatin-1还可能参与了神经内分泌的调节以及对内脏疼痛、压力的自主调节.

Nesfatin-1免疫阳性细胞在外周主要分布在胃黏膜内分泌型细胞、胰岛及十二指肠布氏腺, 在胃黏膜中Nesfatin-1免疫阳性细胞主要集中在下1/3至1/2的黏膜腺中, 胃黏膜的这一部位含有大量的内分泌细胞, 诸如分泌胃泌素的G细胞、分泌生长抑素的D细胞、分泌胃泌素的X/A样细胞还有一些小的内分泌细胞如P细胞和D1细胞[15-17]. Nesfatin-1在胃黏膜中大量与胃泌素共表达, 也有少部分与生长抑素及组胺共表达[5].

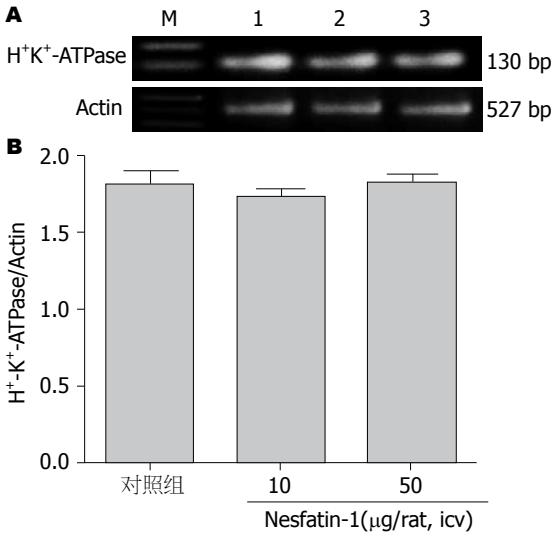


图 4 Nesfatin-1外周静脉注射对大鼠胃H^+-K^+-ATPase mRNA表达无明显影响. 1: 对照组; 2: Nesfatin-1 10 μg/kg iv; 3: Nesfatin-1 50 μg/kg iv.

本研究我们采用了侧脑室及外周静脉给药的方法从两个不同的方面来观察Nesfatin-1对大鼠胃酸分泌功能的影响. 这2种给药方法由于进行的是在体实验, 因而得出的结果较体外实验如细胞培养等更接近正常生理状态下的反应. 侧脑室注射将药物直接注入脑内, 目前多用于观察脑内核团或脑区对某些药物刺激的反应, 药物可直接作用于对其敏感的神经元, 因而比其他途径给药更直接. 我们在脑立体定位仪下将带有套管芯的套管埋置于侧脑室, 用玻璃离子水门汀及螺丝将套管的外露部分固定于颅骨表面, 术后恢复7 d, 一般认为这时手术应激已消失, 血脑屏障已修复, 此法基本避免了应激及血脑屏障的干扰. 目前为公认的脑内直接给药方法, 本研究我们侧脑室给药量(5 μL/只), 亦为大鼠侧脑室给药的常用量[18-21].

胃酸的分泌机能受机体神经和激素共同调节. 在中枢神经系统中与胃酸分泌调节有关的主要神经中枢有迷走神经运动背核、下丘脑和孤束核. 引起胃酸分泌的神经冲动约半数来源于迷走神经运动背核, 这些神经冲动通过迷走神经首先传到胃壁的肠神经系统, 然后抵达胃腺. 迷走神经运动背核能对下丘脑的中枢感觉传入和孤束核的内脏感觉传入进行整合, 从而调节胃酸分泌. 中枢神经系统内促进胃酸分泌的神经递质主要有: 乙酰胆碱、胃泌素、促甲状腺素释放激素、生长抑素和胆囊收缩素等, 而5-羟色胺、去甲肾上腺素、蛙皮素、阿片肽类物质、降钙素等则抑制胃酸的分泌.

胃酸分泌的外周调节主要是食物入胃机械扩张胃体、胃窦以及食糜进入肠内激活肠神经内分泌系统而影响胃酸的分泌. 在外周, 目前已知的促进胃酸分泌的物质主要有: 乙酰胆碱、组胺和胃泌素, 抑制胃酸分泌的物质主要有: 生长抑素、胰泌素、5-HT和前列腺素, 而一些参与摄食调节的神经肽在中枢同样也参与了胃酸分泌的调节. 如中枢注射Ghrelin增加了大鼠摄食量及体质量, 同时也促进了大鼠胃酸的分泌[22-24]. 而可卡因-苯丙胺调节转录肽中枢注射则抑制了大鼠摄食量及大鼠胃酸的分泌[25].

Stengel等[13]报道Nesfatin-1(0.05 μg/只、0.5 μg/只)侧脑室注射抑制了大鼠的胃排空, 我们参照这2种剂量初步探讨了其对大鼠胃酸分泌的影响. 幽门结扎法为一用于研究胃酸分泌的常用方法[7,24-26]. 我们通过结扎大鼠幽门, 侧脑室及外周静脉注射Nesfatin-1, 来观察大鼠3 h的胃酸分泌量. 结果发现, 侧脑室注射Nesfatin-1(0.05 μg/只、0.5 μg/只)明显抑制了大鼠胃酸的分泌, 而外周静脉注射Nesfatin-1即使达到10 μg/只对大鼠胃酸分泌亦无明显影响, 提示Nesfatin-1抑制大鼠胃酸的分泌可能主要是通过中枢神经系统来调节的. 在中枢侧脑室注射Nesfatin-1 0.5 μg/只与Nesfatin-1 0.05 μg/只对大鼠胃酸分泌的抑制并无差别, 可能是由于已达药效平台期.

胃壁细胞H^+-K^+-ATPase是胃酸分泌最后环节的关键酶, H^+-K^+-ATPase通过自身的磷酸化和去磷酸化, 将细胞外液中的K^+转运入细胞内, 同时逆浓度梯度将细胞内的H^+泵出细胞外, 完成H^+/K^+跨膜离子转运和胃酸分泌功能[27]. 研究发现H^+-K^+-ATPase的表达变化趋势与胃酸分泌能力相一致[28]. 因此通过测定H^+-K^+-ATPase的表达可反映胃酸分泌能力. 本研究我们发现, 侧脑室注射Nesfatin-1(0.05 μg/只、0.5 μg/只)后大鼠胃H^+-K^+-ATPase mRNA表达明显下调, 表明侧脑室注射Nesfatin-1抑制了大鼠胃酸的分泌.

总之, Nesfatin-1侧脑室注射抑制了大鼠胃酸的分泌, 而外周给药在目前的药物浓度下未显示对大鼠胃酸的抑制. 在中枢, 其作用的具体通路和机制仍需进一步研究. 在外周, 其对大鼠胃酸分泌的影响是否存在, 仍需以更广的药物浓度梯度来进行验证.

■应用要点
通过本研究可以了解该物质更多的生理功能, 从而为将来有可能开发该物质的临床应用提供更多的理论依据.

■同行评价
本文设计合理, 实验方法可靠, 结果可信, 有一定的理论和实用价值.

4 参考文献

1 Oh-I S, Shimizu H, Satoh T, Okada S, Adachi S, Inoue K, Eguchi H, Yamamoto M, Imaki T, Hashimoto K, Tsuchiya T, Monden T, Horiguchi K, Yamada M, Mori M. Identification of nesfatin-1 as a satiety molecule in the hypothalamus. *Nature* 2006; 443: 709-712 [PMID: 17036007 DOI: 10.1038/nature05162]

2 Brailoiu GC, Dun SL, Brailoiu E, Inan S, Yang J, Chang JK, Dun NJ. Nesfatin-1: distribution and interaction with a G protein-coupled receptor in the rat brain. *Endocrinology* 2007; 148: 5088-5094 [PMID: 17627999 DOI: 10.1210/en.2007-0701]

3 Kohno D, Nakata M, Maejima Y, Shimizu H, Sedbazar U, Yoshida N, Dezaki K, Onaka T, Mori M, Yada T. Nesfatin-1 neurons in paraventricular and supraoptic nuclei of the rat hypothalamus coexpress oxytocin and vasopressin and are activated by refeeding. *Endocrinology* 2008; 149: 1295-1301 [PMID: 18048495 DOI: 10.1210/en.2007-1276]

4 Foo KS, Brismar H, Broberger C. Distribution and neuropeptide coexistence of nucleobindin-2 mRNA/nesfatin-like immunoreactivity in the rat CNS. *Neuroscience* 2008; 156: 563-579 [PMID: 18761059 DOI: 10.1016/j.neuroscience.2008.07.054]

5 Stengel A, Goebel M, Yakubov I, Wang L, Witcher D, Coskun T, Taché Y, Sachs G, Lambrecht NW. Identification and characterization of nesfatin-1 immunoreactivity in endocrine cell types of the rat gastric oxyntic mucosa. *Endocrinology* 2009; 150: 232-238 [PMID: 18818289 DOI: 10.1210/en.2008-0747]

6 Martínez V, Taché Y. Role of CRF receptor 1 in central CRF-induced stimulation of colonic propulsion in rats. *Brain Res* 2001; 893: 29-35 [PMID: 11222989 DOI: 10.1016/S0006-8993(00)03277-7]

7 Bilgin HM, Tumer C, Diken H, Kelle M, Sermet A. Role of ghrelin in the regulation of gastric acid secretion involving nitrergic mechanisms in rats. *Physiol Res* 2008; 57: 563-568 [PMID: 17705669]

8 Wendel M, Sommarin Y, Bergman T, Heinegård D. Isolation, characterization, and primary structure of a calcium-binding 63-kDa bone protein. *J Biol Chem* 1995; 270: 6125-6133 [PMID: 7890746 DOI: 10.1074/jbc.270.11.6125]

9 Islam A, Adamik B, Hawari FI, Ma G, Rouhani FN, Zhang J, Levine SJ. Extracellular TNFR1 release requires the calcium-dependent formation of a nucleobindin 2-ARTS-1 complex. *J Biol Chem* 2006; 281: 6860-6873 [PMID: 16407280 DOI: 10.1074/jbc.M509397200]

10 Cowley MA, Grove KL. To be or NUCB2, is nesfatin the answer? *Cell Metab* 2006; 4: 421-422 [PMID: 17141625 DOI: 10.1016/j.cmet.2006.11.001]

11 Myers MG. Keeping the fat off with nesfatin. *Nat Med* 2006; 12: 1248-1249 [PMID: 17088892 DOI: 10.1038/nm1106-1248]

12 Colmers WF. Less fat with nesfatin. *Trends Endocrinol Metab* 2007; 18: 131-132 [PMID: 17349797 DOI: 10.1016/j.tem.2007.02.009]

13 Stengel A, Goebel M, Wang L, Rivier J, Kobelt P, Mönnikes H, Lambrecht NW, Taché Y. Central nesfatin-1 reduces dark-phase food intake and gastric emptying in rats: differential role of corticotropin-releasing factor2 receptor. *Endocrinology* 2009; 150: 4911-4919 [PMID: 19797401 DOI: 10.1210/en.2009-0578]

14 Fort P, Salvert D, Hanriot L, Jego S, Shimizu H, Hashimoto K, Mori M, Luppi PH. The satiety molecule nesfatin-1 is co-expressed with melanin concentrating hormone in tuberal hypothalamic neurons of the rat. *Neuroscience* 2008; 155: 174-181 [PMID: 18573315 DOI: 10.1016/j.neuroscience.2008.05.035]

15 Zhang AQ, Li XL, Jiang CY, Lin L, Shi RH, Chen JD, Oomura Y. Expression of nesfatin-1/NUCB2 in rodent digestive system. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 1735-1741 [PMID: 20380005 DOI: 10.3748/wjg.v16.i14.1735]

16 Forssmann WG, Orci L, Pictet R, Renold AE, Rouiller C. The endocrine cells in the epithelium of the gastrointestinal mucosa of the rat. An electron microscope study. *J Cell Biol* 1969; 40: 692-715 [PMID: 5765761 DOI: 10.1083/jcb.40.3.692]

17 Capella C, Solcia E, Vassallo G. Identification of six types of endocrine cells in the gastrointestinal mucosa of the rabbit. *Arch Histol Jpn* 1969; 30: 479-495 [PMID: 5388105 DOI: 10.1679/aohc1950.30.479]

18 Tamura H, Kamegai J, Shimizu T, Ishii S, Sugihara H, Oikawa S. Ghrelin stimulates GH but not food intake in arcuate nucleus ablated rats. *Endocrinology* 2002; 143: 3268-3275 [PMID: 12193538 DOI: 10.1210/en.2002-220268]

19 Tamaddonfard E, Hamzeh-Gooshchi N. Effects of intraperitoneal and intracerebroventricular injection of crocin on acute corneal pain in rats. *Phytother Res* 2010; 24: 1463-1467 [PMID: 20878695 DOI: 10.1002/ptr.3169]

20 Hassanzadeh K, Habibi-asl B, Roshangar L, Nemati M, Ansarin M, Farajnia S. Intracerebroventricular administration of riluzole prevents morphine-induced apoptosis in the lumbar region of the rat spinal cord. *Pharmacol Rep* 2010; 62: 664-673 [PMID: 20885006]

21 Yosefi M, Reisi P, Alaei H, Pilehvarian AA, Rashidi B. Treadmill running improves spatial learning and memory in the rats with intracerebroventricular injection of streptozotocin. *J Res Med Sci* 2011; 16: 1386-1387 [PMID: 22973337]

22 Wren AM, Small CJ, Ward HL, Murphy KG, Dakin CL, Taheri S, Kennedy AR, Roberts GH, Morgan DG, Ghatei MA, Bloom SR. The novel hypothalamic peptide ghrelin stimulates food intake and growth hormone secretion. *Endocrinology* 2000; 141: 4325-4328 [PMID: 11089570 DOI: 10.1210/en.141.11.4325]

23 Tschöp M, Smiley DL, Heiman ML. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature* 2000; 407: 908-913 [PMID: 11057670 DOI: 10.1038/35038090]

24 Date Y, Nakazato M, Murakami N, Kojima M, Kangawa K, Matsukura S. Ghrelin acts in the central nervous system to stimulate gastric acid secretion. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 280: 904-907 [PMID: 11162609 DOI: 10.1006/bbrc.2000.4212]

25 Okumura T, Yamada H, Motomura W, Kohgo Y. Cocaine-amphetamine-regulated transcript (CART) acts in the central nervous system to inhibit gastric acid secretion via brain corticotropin-releasing factor system. *Endocrinology* 2000; 141: 2854-2860 [PMID: 10919272 DOI: 10.1210/en.141.8.2854]

26 Taché Y, Goto Y, Gunion MW, Vale W, River J, Brown M. Inhibition of gastric acid secretion in rats by intracerebral injection of corticotropin-releasing

factor. *Science* 1983; 222: 935-937 [PMID: 6415815 DOI: 10.1126/science.6415815]
27 Yao X, Forte JG. Cell biology of acid secretion by the parietal cell. *Annu Rev Physiol* 2003; 65: 103-131 [PMID: 12500969 DOI: 10.1146/annurev.physiol.65.072302.114200]
28 Hervatin F, Benkouka F, Robert JC, Péranzi G, Soumarmon A. The ontogeny of rat gastric H+/K+-ATPase. *Biochim Biophys Acta* 1989; 985: 320-324 [PMID: 2553120 DOI: 10.1016/0005-2736(89)90419-7]

编辑 田滢 电编 闫晋利

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

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775

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

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

世界华人消化杂志 2013年6月8日; 21(16): 1480-1486
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

葡萄籽寡聚体原花青素对大鼠酒精性肝损伤及脑功能障碍的保护作用

王 萌, 马艺萍, 李亚伟, 魏 婕, 张峻豪, 何 佟, 陈世民

■背景资料
葡萄籽寡聚体原花青素(oligomeric proanthocyanidins, OPC)是一种天然药物, 其基本结构单位是儿茶素. OPC中含有儿茶素单体、二聚体和三聚体, 均为水溶性分子, 分子中含有多个酚性羟基. OPC具有很强的抗氧化作用, 还有抗炎症活性、抗突变性及抗氧化性DNA损伤的特性, 癌症化学预防作用, 抗糖尿病作用以及抗微生物活性等. 本研究利用OPC抗脂质过氧化及抗炎症反应等活性作用, 探讨他对酒精性肝损伤及酒精性脑功能障碍的保护作用.

王萌, 马艺萍, 李亚伟, 魏婕, 张峻豪, 海南医学院临床学院 海南省海口市 571101
何佟, 海南医学院机能学实验室 海南省海口市 571101
陈世民, 海南医学院病理生理学教研室 海南省海口市 571101
海南医学院创新性实验项目基金资助项目, No. hycx201001
海南省普通高等学校优秀中青年教师科研和教学奖励基金资助项目, No. 2000-36
作者贡献分布: 本文由王萌、马艺萍、李亚伟、魏婕、张峻豪、何佟及陈世民共同完成; 陈世民负责审校.
通讯作者: 陈世民, 教授, 571101, 海南省海口市学院路3号, 海南医学院病理生理学教研室. smchen2001@126.com
电话: 0898-66895741
收稿日期: 2013-01-07 修回日期: 2013-03-13
接受日期: 2013-05-08 在线出版日期: 2013-06-08

Oligomeric proanthocyanidins from grape seeds protect against alcohol-induced liver injury and cerebral dysfunction in rats

Meng Wang, Yi-Ping Ma, Ya-Wei Li, Jie Wei, Jun-Hao Zhang, Tong He, Shi-Min Chen

Meng Wang, Yi-Ping Ma, Ya-Wei Li, Jie Wei, Jun-Hao Zhang, School of Clinical Medicine, Hainan Medical College, Haikou 571101, Hainan Province, China
Tong He, Functional Laboratory, Hainan Medical College, Haikou 571101, Hainan Province, China
Shi-Min Chen, Department of Pathophysiology, Hainan Medical College, Haikou 571101, Hainan Province, China
Supported by: the Innovative Experiment Foundation of Hainan Medical College, No. hycx201001; and the Science Research and Higher Education Award Foundation for Excellent Young and Middle-aged Scholars in Universities in Hainan Province, No. 2000-36
Correspondence to: Shi-Min Chen, Professor, Department of Pathophysiology, Hainan Medical College, 3 Xueyuan Road, Haikou 571101, Hainan Province, China. smchen2001@126.com
Received: 2013-01-07 Revised: 2013-03-13
Accepted: 2013-05-08 Published online: 2013-06-08

Abstract

AIM: To study the protective effects of oligomeric proanthocyanidins (OPC) from grape seeds against alcohol-induced liver injury and cerebral dysfunction in rats.

METHODS: Thirty-one Sprague-Dawley rats were randomly divided into four groups: A (treated with normal saline), B (treated with OPC), C (treated with OPC and alcohol), and D (treated with alcohol). Groups A and D were administered intragastrically with 0.9% NaCl [10 mL/(kg•d)], while groups B and C were administered with OPC solution [200 mg/(kg•d]. After three hours, groups A and B were intragastrically given 0.9% NaCl [10 mL/(kg•d)], while groups C and D were given 55% alcohol [10 mL/(kg•d)]. After 23 d, blood samples were collected from all animals via the inferior vena cava under general anesthesia, and liver and brain tissue samples were taken and fixed in 10% buffer formaldehyde. The level of aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) in the plasma was measured, and the histopathology of the liver and brain was assessed under an optical microscope.

RESULTS: Plasma levels of AST were 110.00 U/L ± 15.55 U/L, 98.38 U/L ± 17.86 U/L, 100.14 U/L ± 14.46 U/L and 176.00 U/L ± 49.60 U/L in groups A, B, C and D, respectively, and those of ALT were 57.25 U/L ± 9.04 U/L, 49.50 U/L ± 6.67 U/L, 50.28 U/L ± 5.37 U/L and 74.50 ± 9.69 in groups A, B, C and D. Both AST and ALT levels did not significantly differ between groups A, B and C (all $P > 0.05$); however, both AST and ALT levels were significantly elevated in group D compared to groups A, B, and C (all $P < 0.001$). No significant liver injury was found in groups A and B. The incidence of liver injury in group C was lower than that in group D (57.1% *vs* 100%, $P = 0.077$), and the area of injured liver was significantly less in group C than in group D (3.6% ± 3.2% *vs* 63% ± 28%, $P < 0.001$). The latent periods from alcohol administration to the onset of drunkenness was significantly longer in group C than in group D (16.43 min ± 2.71 min *vs* 10.67 min ± 2.38 min, $P < 0.0001$). No significant brain injury was found in all four groups by optical microscopy.

CONCLUSION: Pretreatment with OPC provides excellent protection against alcohol-in-

■同行评议者
何红伟, 副研究员, 中国医学科学院, 北京协和医学院医药生物技术研究所肿瘤室

duced liver injury and slows the onset of drunkenness in rats.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Alcohol-induced liver injury; Cerebral dysfunction; Oxidative stress; Oligomeric proanthocyanidins; Grape seeds

Wang M, Ma YP, Li YW, Wei J, Zhang JH, He T, Chen SM. Oligomeric proanthocyanidins from grape seeds protect against alcohol-induced liver injury and cerebral dysfunction in rats. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(16): 1480-1486 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1480.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1480

摘要

目的: 研究葡萄籽寡聚体原花青素(oligomeric proanthocyanidins, OPC)对大鼠酒精性肝损伤及脑功能障碍的保护作用.

方法: 将31只SD大鼠随机分为4组. A组为生理盐水组, B组为OPC组, C组为OPC+酒精组及D组为酒精组. 2次/d灌胃法, 连续灌胃23 d. 观察动物醉酒潜伏期, 血浆天门冬氨酸氨基转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)和丙氨酸氨基转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)含量以及肝脏和脑组织病理组织学改变.

结果: (1)AST和ALT在A、B及C组之间比较, 差别都没有统计学意义(P>0.05); D组与其他3组比较, AST和ALT都显著升高, 差别有统计学意义(P<0.001); (2)A组及B组肝脏组织均未见明显病理改变. C组及D组大鼠肝脏损伤发生率分别为57.1%及100%; 肝组织损伤面积分别为3.6%±3.2%及63%±28%, 差异有统计学意义(P<0.001); (3)C组比D组大鼠平均醉酒潜伏期时间明显延长(P<0.0001); (4)4组大鼠脑组织在光镜下均未见明显病理改变.

结论: 葡萄籽寡聚体原花青素对大鼠酒精性肝损伤具有明显的保护作用, 还有抗醉酒作用.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 酒精性肝损伤; 脑功能障碍; 氧化应激; 寡聚体原花青素; 葡萄籽

核心提示: 葡萄籽寡聚体原花青素(oligomeric proanthocyanidins, OPC)是一种天然药物, 其基本结构单位是儿茶素. OPC中含有儿茶素单体、二聚体和三聚体, 均为水溶性分子, 分子中含有多个酚性羟基. OPC具有很强的抗氧化作用, 还有抗炎症活性、抗突变性及抗氧化性DNA损伤的特性, 癌症化学预防作用, 抗糖尿病作用以及抗微生物活性等. 本研究利用葡萄籽寡聚体原花青素抗脂质过氧化及抗炎症反应等活性作用, 探讨他对酒精性肝损伤及酒精性脑功能障碍的保护作用.

王萌, 马艺萍, 李亚伟, 魏婕, 张峻豪, 何佟, 陈世民. 葡萄籽寡聚体原花青素对大鼠酒精性肝损伤及脑功能障碍的保护作用. 世界华人消化杂志 2013; 21(16): 1480-1486 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1480.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1480

■**研发前沿**
酒精对人类健康的危害已成共识. 寻找天然药物预防或治疗酒精性肝损伤及脑功能障碍, 已经成为人们关注的研究要点之一.

0 引言

全球好饮者众多, 衍生许多值得关注的社会及健康问题. 据2011年世界卫生组织报告, 饮酒已经成为人类健康的主要杀手之一, 酒精伤害是超过60多种主要疾病及损伤的病因, 每年导致约250万人死亡[1]. 饮酒后, 酒精很快分布于全身组织, 并快速通过血脑屏障. 经常酗酒可以导致包括肝脏、中枢神经、周围神经、骨骼肌和心肌等多种组织损伤[2]. 急性酒精中毒时, 大鼠肝内超氧化物形成增多, 过高的超氧化物可使脂质过氧化并导致肝细胞损伤, 即酒精性肝损伤[3]. 由于肝脏是氧化性药物代谢的主要器官, 所以活性氧(reactive oxygen species, ROS)增多很容易引起肝脏损伤[4]. 急性酒精中毒还增加了感染的危险性, 同时增加了胃肠道的通透性, 循环中细菌内毒素升高, 激发了巨噬细胞对Toll样受体(toll-like receptor, TLR)配基的炎症反应, 使更多具有细胞毒性的细胞因子大量产生, 引起肝脏损伤[5,6]. 炎症反应中各种介质和细胞因子的相互作用, 也是酒精性肝损伤重要发生机制之一[7]. 简言之, 氧化应激和炎症系统激活是酒精性肝损伤病理生理学的关键因素. 葡萄籽寡聚体原花青素(oligomeric proanthocyanidins, OPC)是一种天然药物, 其基本结构单位是儿茶素. OPC中含有儿茶素单体、二聚体和三聚体, 均为水溶性分子, 分子中含有多个酚性羟基. OPC具有很强的抗氧化作用, 还有抗炎症活性, 抗突变性及抗氧化性DNA损伤的特性, 癌症化学预防作用, 抗糖尿病作用以及抗微生物活性等[8,9]. 本研究利用OPC抗脂质过氧化及抗炎症反应等活性作用, 探讨他对酒精性肝损伤及酒精性脑功能障碍的保护作用.

1 材料和方法

1.1 材料 清洁级SD♂大鼠31只, 体质量195.99 g

■相关报道
OPC具有强大的抗氧化、抗炎症、抗突变性、抗微生物活性、抗糖尿病及癌症化学预防作用等.

±19.04 g, 购自中山大学实验动物中心. 12 h光照和黑夜循环, 温度22 ℃±2 ℃, 湿度50%-60%, 标准饲料, 自由饮水. 将动物随机分成4组: A组为生理盐水组(n = 8), B组为OPC组(n = 8), C组为OPC+酒精组(n = 7, 1只在灌胃时意外死亡, 故去除)及D组为酒精组(n = 8). 2次/d灌胃, 首次灌胃前禁食过夜(12 h). A组第1次按10 mL/(kg•d)生理盐水灌胃, 第2次于3 h后按10 mL/(kg•d)生理盐水灌胃; B组第1次按OPC 200 mg/(kg•d)[用生理盐水配成2%的浓度, 10 mL/(kg•d)]灌胃, 第2次于3 h后按10 mL/(kg•d)生理盐水灌胃; C组第1次灌胃按OPC 200 mg/(kg•d)[用生理盐水配成2%的浓度, 10 mL/(kg•d), bw]灌胃, 第2次于3 h后用生理盐水配制酒精浓度为55%, 按10 mL/(kg•d), bw量灌胃; D组第1次按10 mL/(kg•d)生理盐水灌胃, 第2次于3 h后用生理盐水配制酒精浓度为55%, 按10 mL/(kg•d)灌胃. 以上4组连续灌胃23 d. 随后, 全身麻醉, 取血, 分离血浆. 处死所有动物, 取肝脏及脑组织送病理学检查. 贝克曼－库尔特LX-20生化自动分析仪, 用于检测血浆天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)及丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT). AST和ALT试剂盒由广州标佳科技有限公司生产; 红星二锅头酒(62%乙醇)由北京红星股份有限公司生产; 葡萄籽提取物原花青素(又称葡萄多酚), 由青岛海隆达生化科技有限公司生产.

1.2 方法

1.2.1 醉酒潜伏期、平均醉酒潜伏期及总平均醉酒潜伏期: 观察C组及D组大鼠每次灌酒后至开始出现醉酒状态的醉酒潜伏期时间. 以翻正反射消失为判断大鼠醉酒的指标. 计算同组所有大鼠同1 d醉酒潜伏期时间的平均数作为平均醉酒潜伏期. 计算同组所有大鼠实验期间内全部醉酒潜伏期时间的平均数作为总平均醉酒潜伏期.

1.2.2 血浆AST及ALT含量: 动物全身麻醉, 剖腹, 暴露下腔静脉, 用注射器直接穿刺取血, 肝素抗凝. 静置后离心, 取血浆送临床生化检验AST及ALT.

1.2.3 组织病理学: 取肝脏组织及脑组织, 立即用10%中性缓冲甲醛固定, 常规脱水, 石蜡包埋切片, HE染色, 由病理学专科医生光镜下观察组织病理学改变并诊断. 大鼠肝损伤发生率 = 发生肝损伤例数/本组动物总数, 肝损伤面积百分率的计算参考文献[10]方法. 考虑到酒精性肝损伤并非匀质, 故改随机固定视野为连续视野全覆盖观察. 用含刻度标尺的目镜观察, 先测量组织切片的面积, 再测量其中损伤肝细胞区域面积, 肝损伤面积百分率 = 损伤肝细胞区域面积/组织切片的面积×100%.

统计学处理 采用SPSS11.0软件进行统计学处理, 计量资料数据以mean±SD表示, 组间比较采用方差分析, 率的比较采用Fisher确切概率法, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 各组大鼠体质量变化 测量各组动物实验开始时(第1天)及实验结束时(第23天)的体质量, 各组动物体质量均见明显增加, 差异有统计学意义(P<0.001). 而各组间体质量增加百分率差别没有统计学意义(P>0.05, 表1).

2.2 OPC对大鼠血浆AST及ALT含量的影响 A、B及C组之间比较, 血浆AST及ALT含量差异没有统计学意义(P>0.05). D组与其他3组比较, 血浆AST及ALT含量都显著升高, 差异有统计学意义(P<0.001, 表2).

2.3 OPC对大鼠肝组织形态学的影响

2.3.1 各组大鼠肝损伤发生率及肝损伤面积百分率的比较: A组及B组肝脏组织均未见明显病理改变. C组及D组大鼠肝脏组织损伤发生率差异没有统计学意义(P = 0.077), 但两组肝组织损伤面积及严重程度的差异有统计学意义(P<0.001, 表3).

2.3.2 各组大鼠肝组织形态学改变: A组及B组大鼠肝内可见肝小叶结构正常, 以中央静脉为中心呈放射状排列, 肝细胞索排列正常; C组肝小叶结构正常, 仅见局灶少量肝细胞轻微水肿及脂肪变性; D组部分肝小叶结构异常, 可见广泛性水肿变性及脂肪变性肝细胞, 局部有坏死灶并有炎症细胞浸润(图1).

2.4 OPC对大鼠发生醉酒潜伏期时间的影响 C组及D组大鼠每天灌酒后至发生醉酒的平均醉酒潜伏期时间的动态变化如图2. C组总平均醉酒潜伏期时间为16.43 min±2.71 min, D组总平均醉酒潜伏期时间为10.67 min±2.38 min, 两组差别有统计学意义(P<0.0001). 将同组各天与第1天平均醉酒潜伏期时间比较, 发现C组及D组大鼠均从第19天开始, 比第1天平均醉酒潜伏期时间明显延长, 差别有统计学意义(P<0.05). 将同组第23天与第19天比较, C组发生平均醉酒潜伏期时间差别没有统计学意义(P>0.05), 但D组发生平均醉酒潜伏期时间差

■创新盘点
本文发现OPC不仅对大鼠酒精性肝损伤具有明显的保护作用, 还有抗醉酒作用.

表 1 各组大鼠实验前后体质量变化 (mean ± SD, g)

分组	n	实验开始时(第1天)	实验结束时(第23天)	平均体质量增加百分率(%)
生理盐水组	8	201.20 ± 20.45	221.87 ± 20.97[b]	10.27
OPC组	8	195.87 ± 13.39	217.00 ± 13.62[b]	10.79
OPC+酒精组	7	188.14 ± 19.74	211.71 ± 20.26[b]	12.53
酒精组	8	197.75 ± 22.91	218.25 ± 24.02[b]	10.37

[b]*P*<0.001 *vs* 实验开始时(第1天). OPC: 葡萄籽寡聚体原花青素.

表 2 OPC对大鼠血浆AST及ALT含量的影响 (mean ± SD, U/L)

分组	n	AST	ALT
生理盐水组	8	110.00 ± 15.55	57.25 ± 9.04
OPC组	8	98.38 ± 17.86	49.50 ± 6.67
OPC+酒精组	7	100.14 ± 14.46	50.28 ± 5.37
酒精组	8	176.00 ± 49.60[b]	74.50 ± 9.69[b]

[b]*P*<0.001 *vs* 其他组. AST: 天门冬氨酸氨基转氨酶; ALT: 丙氨酸氨基转氨酶. OPC: 葡萄籽寡聚体原花青素.

表 3 OPC对大鼠酒精性肝损伤发生率及损伤面积的影响 (%)

分组	n	肝损伤发生率	肝损伤面积百分率
生理盐水组	8	0	0
OPC组	8	0	0
OPC+酒精组	7	57.1[b]	3.6 ± 3.2[b]
酒精组	8	100[b]	63 ± 28[bd]

[b]*P*<0.0001 *vs* 生理盐水组及OPC组; [d]*P*<0.001 *vs* OPC+酒精组. OPC: 葡萄籽寡聚体原花青素.

别有统计学意义(*P*<0.05).

2.5 OPC对大鼠脑组织形态学的影响 4组大鼠脑组织在光镜下均未见明显病理改变. 本实验未检测脑细胞超微结构及分子水平的改变.

3 讨论

酒精在肝脏代谢有3种途径: (1)乙醇脱氢酶(alcohol dehydrogenase, ADH)作用; (2)细胞色素P4502E1(CYP2E1)作用; (3)线粒体催化酶作用. ADH和CYP2E1将乙醇转化为乙醛, 乙醛是损害肝脏的因素之一. 酒精性肝损伤的发病机制非常复杂, 涉及生化、遗传、细胞、免疫及体液性因素等. 其中, 由酒精诱导的CYP2E1引起的氧化应激(H_2O_2, OH, O_2-增多), 同时肝内抗氧化剂不足, 乙醛作用, 许多细胞因子[主要是肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-alpha, TNF-α), 白介素(interleukin, IL)-6, IL-1α/β]平衡改变等, 是酒精引起肝脏损伤的主要机制[11].

本实验表明, D组大鼠血浆AST及ALT含量显著升高, 肝脏损伤发生率为100%, 肝脏损伤面积达63%±28%, 肝组织广泛性明显水肿, 并可见较多脂肪变性细胞. 表明成功复制了酒精性肝损伤模型.

我们将C组预先灌胃OPC 3 h后再灌胃酒精, 发现AST和ALT没有显著升高, 在A、B及C组之间的差别没有统计学意义(*P*>0.05). A组及B组肝脏组织均未见明显病理改变. C组与D组的实验结果对比, 前者血浆AST及ALT含量明显低于后者(*P*<0.001), 且肝脏损伤发生率从100%降至57.1%, 肝脏损伤面积从63%±28%降至3.6%±3.2%(*P*<0.001). 证明OPC对酒精性肝损伤具有明显保护作用.

OPC具有强大的抗氧化应激和细胞保护作用[8,9,12]. OPC的抗自由基能力和抗自由基引起的脂质过氧化及DNA损伤作用, 明显强于维生素C、E及β-胡萝卜素[13]. OPC还有抗炎症活性,

■应用要点
OPC可护肝护脑，预防酒精性肝损伤及脑功能障碍.

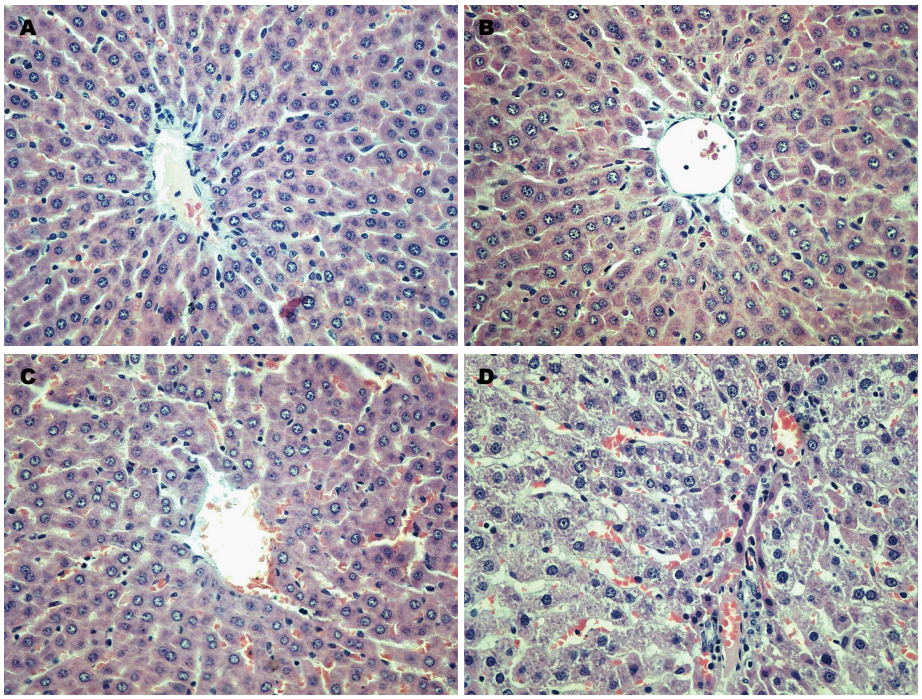


图 1 OPC对酒精性肝损伤的保护作用(HE, ×400). A: 生理盐水组; B: OPC组; C: OPC+酒精组; D: 酒精组. OPC: 葡萄籽寡聚体原花青素.

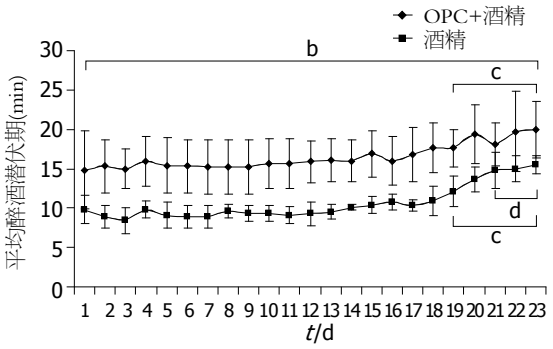


图 2 OPC对大鼠发生醉酒潜伏期时间的影响. $^{b}P<0.0001$ *vs* 酒精组; $^{c}P<0.05$ *vs* 同组第1天; $^{d}P<0.05$ *vs* 同组第19天. OPC: 葡萄籽寡聚体原花青素.

可以减少IL-6和单核细胞趋化蛋白(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)表达, 提高抗炎介质脂肪因子脂联素产生[14]. 还可以通过抑制NO和前列腺素E_2的合成, 抑制iNOS mRNA表达及核转录因子-κB转位, 调节激活的巨噬细胞的炎症反应[15]. 我们认为OPC对酒精性肝损伤的保护作用与其广泛的生物学效应, 如抗氧化应激、抗炎症活性和细胞保护作用有关.

醉酒状态是酒精引起脑功能障碍的重要表现. 实验证明, 醉酒动物运动功能降低与大脑皮层线粒体功能障碍, 导致脑能量代谢障碍有关[16].

给大鼠灌胃酒精10 wk后, 大脑皮层及海马区脂质过氧化物明显升高, 而具有抗氧化特性的还原型谷胱甘肽(reduced glutathione, GSH)、超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性则明显降低. 此外, TNF-α、IL-1b、NFκβ p65亚基及细胞凋亡蛋白酶(caspase-3)在大鼠大脑皮层及海马区也有显著升高[17]. 说明酒精性脑损伤和酒精性肝损伤存在一些共同发病机制, 即均有氧化应激及炎症介质的作用.

在临床研究中, 非创伤性结构成像技术发现慢性酒精中毒患者大脑灰质及白质容量减少, 而戒酒后可部分逆转恢复. 功能影像方法证明酒精中毒患者脑内代谢异常, 如低血糖代谢和神经递质系统平衡破坏等[18].

本实验D组动物灌胃酒精后约10 min即发生脑功能障碍, 表现为醉酒状态. 而C组动物灌胃酒精后约16 min才出现醉酒状态. C组大鼠每天的平均醉酒潜伏期时间均比D组明显延长($P<0.0001$), 说明OPC具有抗醉酒功效. 特别是, C组第1天给予OPC 3 h后, 大鼠醉酒潜伏期就明显延长, 说明该药物即用即效, 不需累积生效. 我们认为, OPC抗醉酒作用机制可能与其强大的抗脑组织氧化应激和炎症反应以及改善脑能量代谢和神经元保护有关.

有实验证明, OPC可以增加神经元轴突的密度, 提高血管内皮生长因子受体2(vascular endothelial growth factor receptor-2, VEGFR-2)的磷酸化, 改善早老小鼠的记忆, 减轻认知障碍及减少大脑神经病理学改变等, 提示OPC具有神经保护作用[19-22].

连续灌酒19 d后, C组和D组动物均对酒精产生了适应性, 醉酒潜伏期明显延长(P<0.05). 我们认为, 这主要是大脑对酒精的适应性反应, 而不是肝脏的适应性反应. 因为, 将同组第23天与第19天比较, D组大鼠肝功能已经明显受损情况下, 醉酒潜伏期仍然进一步延长(P<0.05). 这也表明醉酒潜伏期延长并不意味肝脏损害减轻.

本实验各组大鼠脑组织在光镜下均未见明显病理改变. 关于酒精中毒对脑细胞的影响, 以及OPC对脑细胞保护作用的机制, 需要进一步进行细胞超微结构及分子水平的研究.

先灌OPC后灌酒, 可以明显预防或减轻大鼠酒精性肝损伤, 同时还可明显保护脑功能, 对临床应用有很大的启发作用.

本实验结果提示, OPC对大鼠酒精性肝损伤具有明显的保护作用, 同时还具有抗醉酒作用.

志谢: 本项目在实施过程中得到海南医学院教务部、机能学实验室、病理学教研室及附属医院检验科的大力支持. 在组织病理学检查方面, 得到翁阳教授、张弦老师、薛蓬贵及蓝永洪老师的无私帮助; 在血浆转氨酶检测方面, 得到蔡仁平老师的无私帮助; 在数据统计学处理方面, 得到吴玲老师和赵婵娟老师的无私帮助; 在此一并表示衷心感谢.

4 参考文献

1 World Health Organization. Global Status Report on Alcohol and Health 2011. Geneva: WHO Press 2011. Available from: http: //www.who.int/substance_abuse/publications/global_alcohol_report/en/index.html
2 Chopra K, Tiwari V. Alcoholic neuropathy: possible mechanisms and future treatment possibilities. *Br J Clin Pharmacol* 2012; 73: 348-362 [PMID: 21988193 DOI: 10.1111/j.1365-2125.2011.04111.x]
3 Adachi M, Ishii H. Role of mitochondria in alcoholic liver injury. *Free Radic Biol Med* 2002; 32: 487-491 [PMID: 11958949]
4 Arteel GE. Oxidants and antioxidants in alcohol-induced liver disease. *Gastroenterology* 2003; 124: 778-790 [PMID: 12612915]
5 Massey VL, Arteel GE. Acute alcohol-induced liver injury. *Front Physiol* 2012; 3: 193 [PMID: 22701432 DOI: 10.3389/fphys.2012.00193]
6 Nolan JP. The role of intestinal endotoxin in liver injury: a long and evolving history. *Hepatology* 2010; 52: 1829-1835 [PMID: 20890945 DOI: 10.1002/hep.23917]
7 An L, Wang X, Cederbaum AI. Cytokines in alcoholic liver disease. *Arch Toxicol* 2012; 86: 1337-1348 [PMID: 22367091 DOI: 10.1007/s00204-012-0814-6]
8 Praphasawat R, Klungsupya P, Muangman T, Laovitthayanggoon S, Arunpairojana V, Himakoun L. Antimutagenicity and antioxidative DNA damage properties of oligomeric proanthocyanidins from Thai grape seeds in TK6 cells. *Asian Pac J Cancer Prev* 2011; 12: 1317-1321 [PMID: 21875289]
9 Xu Z, Du P, Meiser P, Jacob C. Proanthocyanidins: oligomeric structures with unique biochemical properties and great therapeutic promise. *Nat Prod Commun* 2012; 7: 381-388 [PMID: 22545414]
10 姚凤云, 杨伟鹏, 肖洪彬, 段富津, 穆欣, 王彦礼, 王怡薇. 肝加欣片对酒精性肝损伤大鼠肝组织病理学改变的影响. 中国实验方剂学杂志 2006; 12: 54-55
11 Bruha R, Dvorak K, Petrtyl J. Alcoholic liver disease. *World J Hepatol* 2012; 4: 81-90 [PMID: 22489260 DOI: 10.4254/wjh.v4.i3.81]
12 Kim Y, Choi Y, Ham H, Jeong HS, Lee J. Antioxidant and cytoprotective effects of oligomeric and polymeric procyanidin fractions from defatted grape seed in PC12 cells. *J Med Food* 2012; 15: 490-494 [PMID: 22400909]
13 Bagchi D, Bagchi M, Stohs SJ, Das DK, Ray SD, Kuszynski CA, Joshi SS, Pruess HG. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention. *Toxicology* 2000; 148: 187-197 [PMID: 10962138]
14 Chacón MR, Ceperuelo-Mallafré V, Maymó-Masip E, Mateo-Sanz JM, Arola L, Guitiérrez C, Fernandez-Real JM, Ardèvol A, Simón I, Vendrell J. Grape-seed procyanidins modulate inflammation on human differentiated adipocytes in vitro. *Cytokine* 2009; 47: 137-142 [PMID: 19560935 DOI: 10.1016/j.cyto.2009.06.001]
15 Terra X, Valls J, Vitrac X, Mérrillon JM, Arola L, Ardèvol A, Bladé C, Fernandez-Larrea J, Pujadas G, Salvadó J, Blay M. Grape-seed procyanidins act as antiinflammatory agents in endotoxin-stimulated RAW 264.7 macrophages by inhibiting NFkB signaling pathway. *J Agric Food Chem* 2007; 55: 4357-4365 [PMID: 17461594]
16 Bustamante J, Karadayian AG, Lores-Arnaiz S, Cutrera RA. Alterations of motor performance and brain cortex mitochondrial function during ethanol hangover. *Alcohol* 2012; 46: 473-479 [PMID: 22608205 DOI: 10.1016/j.alcohol.2011.09.027]
17 Tiwari V, Chopra K. Resveratrol abrogates alcohol-induced cognitive deficits by attenuating oxidative-nitrosative stress and inflammatory cascade in the adult rat brain. *Neurochem Int* 2013; 62: 861-869 [PMID: 23422878]
18 Bühler M, Mann K. Alcohol and the human brain: a systematic review of different neuroimaging methods. *Alcohol Clin Exp Res* 2011; 35: 1771-1793 [PMID: 21777260 DOI: 10.1111/j.1530-0277.2011.01540.x]
19 Yokozawa T, Lee YA, Cho EJ, Matsumoto K, Park CH, Shibahara N. Anti-aging effects of oligomeric proanthocyanidins isolated from persimmon fruits. *Drug Discov Ther* 2011; 5: 109-118 [PMID: 22466239]
20 Lee YA, Cho EJ, Yokozawa T. Oligomeric proanthocyanidins improve memory and enhance phosphorylation of vascular endothelial growth factor receptor-2 in senescence-accelerated mouse prone/8. *Br J Nutr* 2010; 103: 479-489 [PMID: 19822031 DOI: 10.1017/S0007114509992005]
21 Hartman RE, Shah A, Fagan AM, Schwetye KE, Parsadanian M, Schulman RN, Finn MB, Holtzman DM. Pomegranate juice decreases amyloid load and improves behavior in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis* 2006; 24: 506-515 [PMID:

■同行评价
本文的结论明确, 文字流畅, 统计恰当, 具有一定的科学性, 创新性.

17010630]
22 Wang J, Ho L, Zhao W, Ono K, Rosensweig C, Chen L, Humala N, Teplow DB, Pasinetti GM. Grape-derived polyphenolics prevent Abeta oligomerization and attenuate cognitive deterioration in a mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurosci* 2008; 28: 6388-6392 [PMID: 18562609 DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0364-08.2008]

编辑 李军亮 电编 闫晋利

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》修回稿须知

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

1 修回稿信件

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

2 稿件修改

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

3 版权

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

世界华人消化杂志 2013年6月8日; 21(16): 1487-1492
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

microRNA–183家族的表达在肝细胞癌临床诊断中的价值

邱历伟, 吴 玮, 赛文莉, 杨君伶, 张海健, 顾 星, 时 运, 陆少林, 姚登福

邱历伟, 吴玮, 赛文莉, 杨君伶, 张海健, 顾星, 时运, 陆少林, 姚登福, 南通大学附属医院临床医学研究中心 江苏省南通市 226001
邱历伟, 硕士, 主要从事肿瘤早期诊断及分子机制的研究.
南通市科技应用研究计划基金资助项目, No. K2010026
国家国际科技合作专项基金资助项目, No. 2013DFA32150
作者贡献分布: 方法研究、数据整理和文章起草由邱历伟完成; 病例选择由赛文莉与杨君伶完成; 顾星与时运参加完成部分研究工作; 临床资料和统计分析由吴玮与张海健完成; 设计、论文修改和审阅由陆少林与姚登福完成.
通讯作者: 姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市西寺路20号, 南通大学附属医院临床医学研究中心. yaodf@ahnmc.com
电话: 0513-85052413
收稿日期: 2013-03-08 修回日期: 2013-03-26
接受日期: 2013-04-27 在线出版日期: 2013-06-08

Diagnostic value of expression of microRNA-183 family members in hepatocellular carcinoma

Li-Wei Qiu, Wei Wu, Wen-Li Sai, Jun-Ling Yang, Hai-Jian Zhang, Xing Gu, Yun Shi, Shao-Lin Lu, Deng-Fu Yao

Li-Wei Qiu, Wei Wu, Wen-Li Sai, Jun-Ling Yang, Hai-Jian Zhang, Xing Gu, Yun Shi, Shao-Lin Lu, Deng-Fu Yao, Research Center for Clinical Medicine, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China
Supported by: the Applied Research Project of Department of Science and Technology of Nantong, China, No. K2010026; and International Science and Technology Cooperation Program of China, No. 2013DFA32150
Correspondence to: Deng-Fu Yao, Professor, Research Center for Clinical Medicine, Affiliated Hospital of Nantong University, 20 Xisi Road, Nantong 226001, Jiangsu Province, China. yaodf@ahnmc.com
Received: 2013-03-08 Revised: 2013-03-26
Accepted: 2013-04-27 Published online: 2013-06-08

Abstract

AIM: To investigate the expression of microRNA-183 family members in hepatocellular carcinoma (HCC) and to analyze their diagnostic value.

METHODS: The expression of miR-183 family members (miR-96, miR-182 and miR-183) was examined by real-time reverse transcription-quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) in HCC and matched tumor-adjacent and tumor-distant tissues, and in 80 serum samples from patients with HCC, cirrhosis or chronic hepatitis B, and health controls.

RESULTS: The levels of miR-96 and miR-182 expression in tissues and sera of HCC patients were significant higher than those in any of other groups (all $P < 0.001$). The level of miR-183 in the liver was significantly lower in HCC than in matched tumor-adjacent and tumor-distant tissue (both $P < 0.001$), although there was no significant difference in serum miR-183 between each group. Liver expression of miR-183 family members was positively associated with their serum levels ($r_{miR-96} = 0.815$, $r_{miR-182} = 0.806$, $r_{miR-183} = 0.851$) in HCC. The areas under the receiver operating characteristic curve of serum miR-96 and miR-182 were 0.927 and 0.940. The relative level of serum miR-183 was significantly higher in patients with extrahepatic metastasis than in those without extrahepatic metastasis ($P < 0.019$).

CONCLUSION: Expression of miR-96 and miR-182 is up-regulated and that of miR-183 down-regulated in HCC. Circulating miR-96 and miR-182 are useful biomarkers for HCC diagnosis. Down-regulation of miR-183 is associated with HCC extrahepatic metastasis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; MicroRNA; RT-qPCR; Diagnosis

Qiu LW, Wu W, Sai WL, Yang JL, Zhang HJ, Gu X, Shi Y, Lu SL, Yao DF. Diagnostic value of expression of microRNA-183 family members in hepatocellular carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(16): 1487-1492 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1487.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1487

摘要

目的: 探讨肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)组织及血清中microRNA-183家族的表达与诊断价值.

方法: 采用实时荧光定量PCR法, 检测以自身对照法HCC患者组织(癌、癌周和远癌)和血清中miR-96、miR-182及miR-183的表达, 并

■背景资料
miRNA由19-26核苷酸组成, 可调节其下游多个甚至数百个靶基因, miRNA在肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)发生过程中, 既可通过调节细胞凋亡或者细胞周期, 也可经调节癌基因和/或抑癌基因参与肿瘤的发生途径, 影响肝癌的发生.

■同行评议者
唐南洪, 教授, 福建医科大学附属协和医院省肝胆外科研究所

■研发前沿
近年研究发现MicroRNA(miRNA)在血中稳定，即使在血清中加入RNase、Dnase、盐酸、氢氧化钠等或反复冻融处理，仍能检测到表达稳定的miRNA，说明血miRNA可作为一种新标志物用于肝癌诊断.

与肝硬化、慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)患者及健康体检者进行比较.

结果: HCC患者的癌组织和血清miR-96和miR-182表达量均明显高于其他组(P<0.001); miR-183癌组织相对表达量显著低于远癌及癌周(P<0.001), 但在血清中各组间差异无统计学意义. HCC患者组织及血清miR-183家族表达呈明显正相关(r_{miR-96} = 0.815、$r_{miR-182}$ = 0.806、$r_{miR-183}$ = 0.851). 血清miR-96、miR-182 ROC曲线下面积分别为0.927和0.940. HCC患者血清miR-183相对表达量与肝外转移相关(P = 0.019).

结论: HCC组织miR-183家族呈异常表达，呈现miR-96和miR-182升高，miR-183下降；血miR-96和miR-182异常表达有助于肝癌诊断，而miR-183降低与HCC转移相关.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 肝细胞癌; microRNA; 实时定量PCR; 诊断

核心提示: 人类约50%miRNAs以miRNA家族或称基因簇(miRNA clusters)的形式存在, miR-183家族即是其中之一. miR-183家族基因定位于人类染色体7q32, 编码miR-96、miR-182及miR-183, 其序列在不同动物物种中高度保守.

邱历伟, 吴玮, 赛文莉, 杨君伶, 张海健, 顾星, 时运, 陆少林, 姚登福. microRNA-183家族的表达在肝细胞癌临床诊断中的价值. 世界华人消化杂志 2013; 21(16): 1487-1492 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1487.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1487

0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是我国常见的恶性肿瘤，其发生、发展是多因素、多基因和多步骤的复杂过程[1,2]. MicroRNA(miRNA)是一类内源性非编码小分子RNA, 可经序列特异性翻译抑制或miRNA裂解来调控其靶基因, 他们通过与靶基因miRNA的结合调控其他基因miRNA和蛋白的表达, 参与发育、炎症、肿瘤等多种生理、病理过程. HCC中多个miRNA的异常表达已被证明参与了HCC的发生发展. 我国绝大多数肝癌患者与HBV感染密切相关, 但HBV感染发展到肝硬化或肝癌进程中, 有关miRNA表达研究较少[3-5]. 本文初步分析了miRNA-183家族成员在肝癌不同组织及外周血中的表达及相关性, 旨在探讨该家族在肝癌诊断中的应用价值.

1 材料和方法

1.1 材料 按自身配对法收集2010-03/2011-03南通大学附属医院住院肝癌患者的手术后新鲜组织分为癌灶、癌周(距癌中心≥3 cm)及远癌(距癌中心>5 cm)组并留取血清, 其中男12例, 女8例; 年龄37-77岁, 平均58.5岁±8.4岁. HCC患者术前均未做任何抗HCC治疗, 术后均病理检查证实为HCC. 另从住院患者中收集肝硬化及慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)患者血清各20例, 其诊断符合中华医学会2010版《慢性乙型肝炎防治指南》标准. 20例健康人血清来自健康体检人群, 无重要器官疾病史, 乙型肝炎病毒表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)和丙氨酸氨基移换酶(alanine aminotransferase, ALT)均正常. miRcute miRNA提取分离试剂盒、miRcute miRNAcDNA第一链合成试剂盒、miRcute miRNA荧光定量检测试剂盒和microRNA特异性引物由北京天根公司提供和合成; miRNeasy mini kit试剂盒购自德国QIAGEN公司; TRIzol LS购自美国Invitrogen公司; Rotor-Gene Q实时荧光定量PCR仪为德国QIAGEN公司产品; 高速冷冻离心机Z300K为德国HERMLE公司产品.

1.2 方法

1.2.1 组织及血清miRNA提取: 50 mg肝组织, 加入MZ裂解液1 mL, 置液氮中研磨匀浆后按照miRcute miRNA提取分离试剂盒说明书步骤完成, 提取的小分子RNA溶于20 μL Rnase-free ddH_2O中备用. 200 μL新鲜血清加入3倍体积的TRIzol LS后震荡混匀, 加入0.5 mL氯仿后震荡混匀, 12000 r/min 4 ℃离心15 min, 取上清, 加入1.5倍体积的无水乙醇, 按照miRNeasy mini kit试剂盒说明书步骤完成提取, 取得的RNA溶解于200 μL Rnase-free ddH_2O中备用.

1.2.2 荧光定量PCR检测组织和血清中miRNA: miRNA逆转录按照miRcute miRNA cDNA第一链合成试剂盒说明书步骤进行. 荧光定量PCR按照miRcute miRNA荧光定量检测试剂盒说明书进行检测检测. 反应体系为20 μL, 包括第一链合成cDNA、miRcute miRNA premix及引物(引物序列见表1). 反应条件: 94 ℃预变性2 min; 然后94 ℃ 20 s、60 ℃ 35 s, 进行35-45个循环反应. 以U6 RNA(组织)及miR-16(血清)作为内参. 组织及血清中miR-96、miR-182及miR-183相对表达量比较采用$2^{-\triangle Ct}$法, 组织及血清中miR-96、miR-182及miR-183相关分析中, 相对表达量计

表 1 相关基因定量PCR引物设计

	扩增序列	基因序列号	引物序列
目的基因	miR-96	MIMAT0000095	TATGGCACTGGTAGAATTCACT
	miR-182	MIMAT0000259	TTTGGCAATGGTAGAACTCACA
	miR-183	MIMAT0000261	TTTGGCACTAGCACATTTTTGCT
内参基因	U6 RNA	X07425.1	CACCACGTTTATACGCCGGTG
	miR-16	MIMAT0000069	TAGCAGCACGTAAATATTGGCG

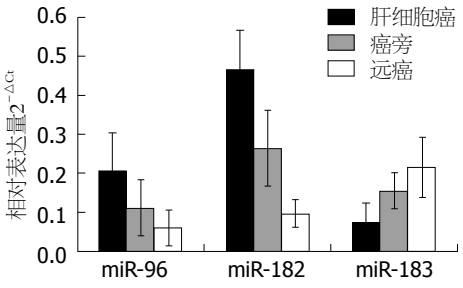


图 1 肝癌组织中miR-183家庭成员的相对表达量.

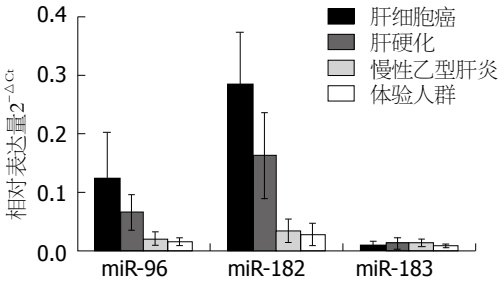


图 2 不同肝病患者血清中miR-183家族相对表达量.

算公式为RQ = $2^{-\triangle\triangle Ct}$[6]. 每个样品以3次重复测定取平均值, 同时做空白组以提高实验可靠性.

统计学处理 计量资料以mean±SD表示. 应用方差分析比较不同组间miRNA相对表达量差异, 通过双变量线性回归与相关分析分析HCC患者癌组织与相应血清miRNA相对表达量的相关性, 应用ROC受试者工作曲线分析血清miRNA诊断价值, 应用两样本*t*检验比较不同病理指标间miRNA相对表达量差异. 检验水准为$\alpha = 0.05$. 所有统计学检验应用SPSS12.0软件包进行.

2 结果

2.1 肝癌组织中miR-96、miR-182及miR-183的表达 在20例HCC癌组织及配对的癌周及远癌组织中, miR-96及miR-182的相对表达量均表现为癌组织>癌周>远癌的趋势, 其差异均有统计学意义($F_{miR-96} = 39.54$, $F_{miR-182} = 100.03$, $P = 0.0000$), 而与此相反, miR-183的相对表达量在癌组织中最低, 明显低于配对的癌周及远癌组织($F_{miR-183} = 28.87$, $P = 0.0000$)(图1).

2.2 血清中miR-96、miR-182及miR-183的表达 miR-183家族在血清中的表达规律与组织基本一致, HCC患者血清miR-96及miR-182的相对表达量均明显高于肝硬化、CHB及正常体检者, 差异有统计学意义($F_{miR-96} = 27.10$, $F_{miR-182} = 84.68$, $P = 0.0000$), 而miR-183相对表达水平在各组血清中均较低, 各组间无统计学差异($F_{miR-183} = 2.72$, $P = 0.0665$)(图2).

2.3 血清与组织中miR-96、miR-182及miR-183表达的相关性 按照计算公式RQ = $2^{-\triangle\triangle CT}$, 分别算出miR-96、miR-182及miR-183在20例 HCC患者癌组织及自身血清中的相对表达量(差异倍数), 经过双变量线性回归和相关分析得出HCC患者癌组织与相应血清中的miR-96、miR-182及miR-183相对表达量均呈正相关, 相关系数分别为$r_{miR-96} = 0.815$、$r_{miR-182} = 0.806$、$r_{miR-183} = 0.851$, 经统计学分析, 均$P<0.001$(图3).

2.4 血清miR-96、miR-182检测在肝癌诊断中的价值 采用受试者工作曲线图分析受试人群中血清miR-96及miR-182相对表达量在肝癌诊断中的应用, 发现血清miR-96及miR-182曲线下面积分别为0.927和0.940. 以血清miR-96相对表达量0.052为临界值, 对肝癌的诊断敏感性为95%, 特异性为81.7%; 以血清miR-182相对表达量0.157为临界值, 对肝癌诊断敏感性为95%, 特异性为83.3%(图4).

2.5 血清miR-96、miR-182及miR-183与肝癌病理学指标的关系 HCC患者血清miR-96、miR-182表达水平与肝癌肿瘤直径、血甲胎蛋白(α-fetoprotein, AFP)水平、肿瘤分化程度及是否有肝外转移等病理指标无关($P>0.05$). 血清miR-183表达水平与肿瘤直径、AFP及分化程度无关, 但与患者是否有肝外转移有关($P = 0.019$, 表2).

■相关报道
miR-183家族成员在多种肿瘤中有差异表达, 如miR-96和miR-182在结直肠癌、前列腺癌中高表达, miR-183在骨肉瘤、卵巢癌中低表达等. miR-183家族可作为癌基因(miR-96和miR-182)和抑癌基因(miR-183)在肝癌发生发展过程中发挥作用.

■创新盘点

miR-183家族在非小细胞肺癌中是一种潜在的肿瘤标志物, 其表达与肺癌的诊断、预后判断密切相关, 但检测血清miR-183家族在肝癌诊断中的应用尚未见报道.

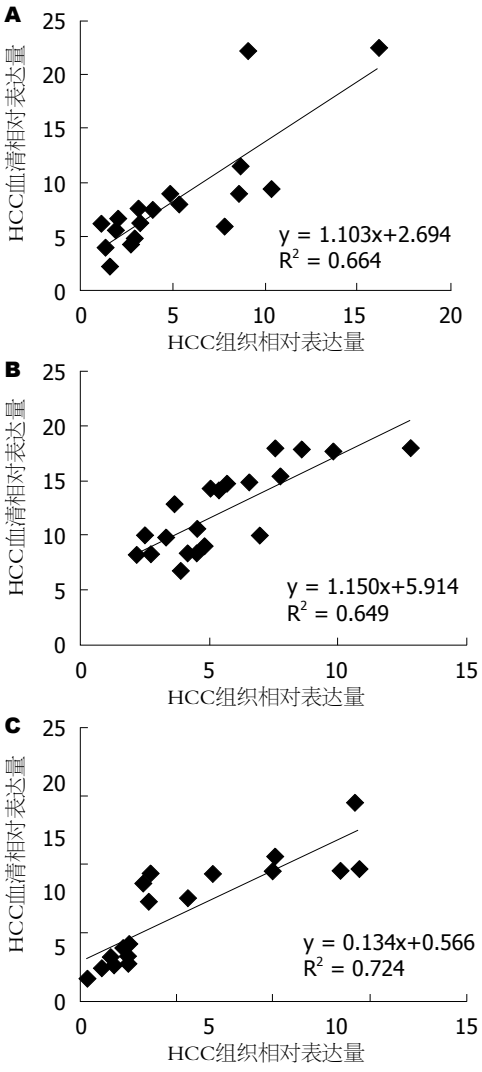


图 3 HCC患者血清与组织miR-183家族表达的相关性. A: miR-96; B: miR-182; C: miR-183. HCC: 肝细胞癌.

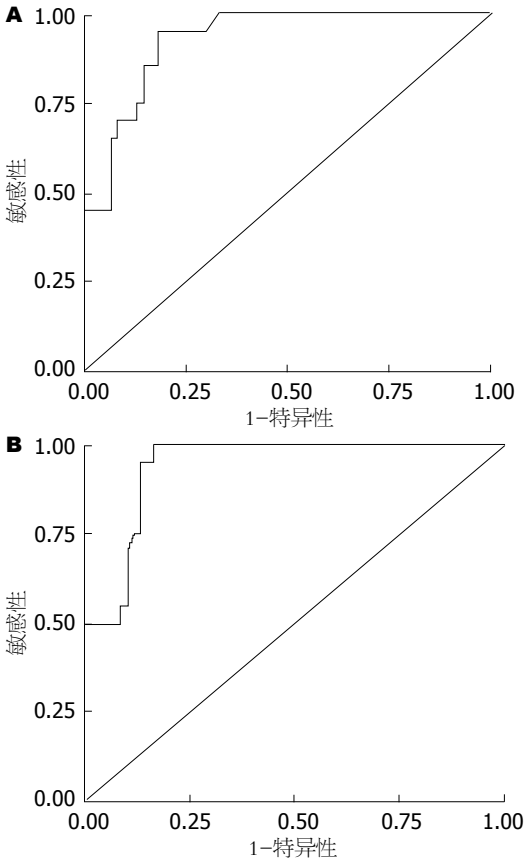


图 4 血清miR-96、miR-182对肝癌诊断的ROC分析. A: microRNA-96; B: microRNA-182.

3 讨论

HCC是我国的高发恶性肿瘤之一, 在所有恶性肿瘤中其发病率为第3位, 死亡率为第2位, 每年约有11万肝癌患者因病死亡[7]. 目前肝癌的治疗仍以手术切除为主, 但由于肝癌有易转移及术后易复发等特点, 术后5年生存率仍不十分理想, 因而对肝癌的治疗效果很大程度上依赖于早期发现、早期诊断和早期手术. 临床用于辅助诊断肝癌的血清标志物较多, 如AFP、血清谷氨酰转肽酶(gamma-glutamyl transpeptidase, GGT)等, 但对于肝癌的诊断仍存在敏感度较低、特异性不足等问题. 以经典的AFP为例, 研究结果显示其对肝癌诊断的敏感度为55.8%, 特异性76%, 有1/3以上的原发性肝癌患者AFP为阴性[8]. 因此, 找到一种早期诊断肝癌敏感性及特异性更高的肿瘤标志物是迫切需要的.

miRNA由19-26个核苷酸组成, 可调节其下游多个甚至数百个靶基因, miRNA在HCC发生过程中, 既可通过调节细胞凋亡或者细胞周期, 也可经调节癌基因和/或抑癌基因参与肿瘤发生途径, 影响HCC的发生. 因而很多miRNA实质即是肝癌相关的癌基因或抑癌基因, 对这些肝癌相关的miRNA进行检测, 可能对肝癌的诊断以及预后判断等具有一定的价值[9]. 如有学者通过芯片技术鉴定了肝癌和配对非癌肝组织中差异表达的20个miRNA, 发现其中miR-138在77.8%的肝癌组织中表达下调, miR-138作为一种抑癌基因通过影响细胞周期抑制肿瘤形成, 其失活或表达下调可能是肝癌发生的标志[10]. 而对有无早期复发肝癌者大通量miRNA差异分析, 发现miR-29a-5p表达与肝癌术后早期复发密切相关[11], 对其进行检测有助预测术后复发和判断生存率. 但以上这些研究大部分局限于肿瘤组织或肿瘤细胞.

人类约50%miRNAs以miRNA家族或称基因簇(miRNA clusters)的形式存在, miR-183家族即是其中之一. miR-183家族基因定位于人类染色体7q32, 编码miR-96、miR-182及miR-183, 其序列在不同动物物种中高度保守[12]. 已有研究

表 2 血清miR-96、miR-182及miR-183与肝癌病理学指标的关系 ($2^{-\triangle CT}$)

病理指标	*n*	miR-96	miR-182	miR-183
肿瘤直径(cm)				
>5	11	0.141 ± 0.104	0.280 ± 0.099	0.009 ± 0.005
<5	9	0.101 ± 0.028	0.290 ± 0.078	0.011 ± 0.006
*P*值		0.279	0.808	0.426
血甲胎蛋白(ng/mL)				
>400	8	0.120 ± 0.089	0.276 ± 0.081	0.010 ± 0.007
≤400	12	0.125 ± 0.077	0.290 ± 0.096	0.010 ± 0.005
*P*值		0.897	0.739	0.999
分化程度				
高中分化	11	0.100 ± 0.040	0.284 ± 0.097	0.011 ± 0.007
低分化	9	0.151 ± 0.108	0.284 ± 0.082	0.009 ± 0.004
*P*值		0.163	0.999	0.457
肝外转移				
有	5	0.107 ± 0.032	0.273 ± 0.096	0.005 ± 0.001
无	15	0.129 ± 0.091	0.288 ± 0.089	0.012 ± 0.005
*P*值		0.608	0.758	0.019

■应用要点

肝癌患者血miR-96和miR-182表达量明显高于肝硬化、慢性肝炎和正常人, 伴肝外转移患者血miR-183表达明显低于无肝外转移者. 血miR-183家族的表达在肝癌诊断和预后判断中有较好的应用价值.

表明, miR-183家族成员在多种肿瘤中有差异表达, 如miR-96和miR-182在结直肠癌、前列腺癌中高表达, miR-183在骨肉瘤、卵巢癌中低表达等均已有报道[13-17]. 本研究通过定量PCR技术发现miR-183家族中miR-96、miR-182的相对表达量在肝癌患者肝组织中呈癌组织>癌周组织>远癌组织的趋势, 各组间的差异有显著性, 而miR-183的相对表达趋势则与此相反, 提示miR-183家族成员可能分别作为癌基因(*miR-96*和*miR-182*)和抑癌基因(*miR-183*)在肝癌发生发展过程中发挥作用.

对于一个良好的诊断标志物而言, 标本留取方便, 检测对象成分稳定易于检出是必不可少的条件; 与检测组织miRNA相比, 患者血清较易取得和检测, 且研究表明肿瘤患者血清中miRNA的表达与肿瘤组织中超表达的miRNA释放入外周循环有直接的关联[18]. 目前, 肿瘤组织中miRNA释放入外周血的机制主要有两种, 一种为肿瘤细胞在增殖扩散和溶解消散过程中导致miRNA释放入外周血; 另一种为miRNA主要通过超微小泡在细胞间传递, 在传递过程中超微小泡从细胞膜脱落将miRNA释放到胞外和外周血[19,20]. 以往认为miRNA在外周血中不稳定而难于检测, 但近年研究发现miRNA在外周血中非常稳定, 即使在血清中加入RNase、Dnase、盐酸、氢氧化钠等或反复冻融处理后仍能检测到表达稳定的miRNA, 这充分说明血清miRNA有可能作为一种新的标志物用于肿瘤的诊断[21].

miR-183家族在非小细胞肺癌中是一种潜在的肿瘤标志物, 其表达与肺癌的诊断、预后判断密切相关, 但检测血清miR-183家族在肝癌诊断中的应用尚未见报道[22]. 本研究结果显示, 肝癌患者血清中miR-96和miR-182的相对表达量明显高于肝硬化、CHB和正常体检者, 且肝癌患者血清中miR-96和miR-182的高表达与肿瘤组织中的表达呈正相关关系, 表明血清miR-96和miR-182相对表达水平与肝脏中的表达水平相一致, 能反映肝癌发生发展的情况. ROC工作曲线显示以miR-96和miR-182作为诊断标志物, 其曲线下面积分别达到0.927和0.940; 以miR-96相对表达量0.052和miR-182相对表达量0.157为临界值, 其诊断灵敏度和特异性分别达到95%、95%和81.7%、83.3%. 而肝癌患者血清miR-183相对表达量与其他组相比无明显差异, 但在有肝外转移的HCC患者血清中miR-183相对表达量低于无肝外转移者, 差异有统计学意义.

总之, HCC患者血清中miR-96和miR-182的相对表达量明显高于肝硬化、CHB和正常体检者, 而有肝外转移的肝癌患者其血清miR-183相对表达量明显低于无肝外转移者. 检测血清miR-183家族的表达在肝癌的诊断和预后判断中有较好的应用价值.

4 参考文献

1 Yao M, Yao DF, Bian YZ, Zhang CG, Qiu LW, Wu W, Sai WL, Yang JL, Zhang HJ. Oncofetal antigen

■同行评价
本文具有较好的创新性和良好的应用性，具有一定的指导意义.

glypican-3 as a promising early diagnostic marker for hepatocellular carcinoma. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2011; 10: 289-294 [PMID: 21669573 DOI: 10.1016/S1499-3872(11)60048-9]
2 邱历伟, 姚登福. microRNA在肝癌发生和发展中的作用及其机制. 中华肝脏病杂志 2011; 19: 958-960
3 Baer C, Claus R, Plass C. Genome-wide epigenetic regulation of miRNAs in cancer. *Cancer Res* 2013; 73: 473-477 [PMID: 23316035 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-3731]
4 Nana-Sinkam SP, Croce CM. Clinical applications for microRNAs in cancer. *Clin Pharmacol Ther* 2013; 93: 98-104 [PMID: 23212103 DOI: 10.1038/clpt.2012.192]
5 马兆龙, 杨炼, 陈立波, 黄金明, 王冬冬, 王国斌. miRNA在HBV从感染经由肝硬化到肝癌进程中表达谱的变化. 世界华人消化杂志 2009; 17: 2112-2116
6 Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods* 2001; 25: 402-408 [PMID: 11846609 DOI: 10.1006/meth.2001.1262]
7 Zhang HJ, Yao DF, Yao M, Huang H, Wu W, Yan MJ, Yan XD, Chen J. Expression characteristics and diagnostic value of annexin A2 in hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 5897-5904 [PMID: 23139605 DOI: 10.3748/wjg.v18.i41.5897]
8 Jirun P, Zhang G, Kim HK, Ha SA, Zhongtian J, Shishi Q, Zhuqingqing C, Lei G, Yoo J, Kim S, Park YG, Wang J, Yang Y, Xu Z, Huang Z, Lee YK, Song EY, Kim JW. Clinical utility of alpha fetoprotein and HCCR-1, alone or in combination, in patients with chronic hepatitis, liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Dis Markers* 2011; 30: 307-315 [PMID: 21725159]
9 Giordano S, Columbano A. MicroRNAs: new tools for diagnosis, prognosis, and therapy in hepatocellular carcinoma? *Hepatology* 2013; 57: 840-847 [PMID: 23081718 DOI: 10.1002/hep.26095]
10 Wang W, Zhao LJ, Tan YX, Ren H, Qi ZT. MiR-138 induces cell cycle arrest by targeting cyclin D3 in hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis* 2012; 33: 1113-1120 [PMID: 22362728 DOI: 10.1093/carcin/bgs113]
11 Zhu HT, Dong QZ, Sheng YY, Wei JW, Wang G, Zhou HJ, Ren N, Jia HL, Ye QH, Qin LX. MicroRNA-29a-5p is a novel predictor for early recurrence of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma after surgical resection. *PLoS One* 2012; 7: e52393 [PMID: 23285022 DOI: 10.1371/journal.pone.0052393]
12 Lumayag S, Haldin CE, Corbett NJ, Wahlin KJ, Cowan C, Turturro S, Larsen PE, Kovacs B, Witmer PD, Valle D, Zack DJ, Nicholson DA, Xu S. Inactivation of the microRNA-183/96/182 cluster results in syndromic retinal degeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013; 110: E507-E516 [PMID: 23341629 DOI: 10.1073/pnas.1212655110]
13 Xu XM, Qian JC, Deng ZL, Cai Z, Tang T, Wang P, Zhang KH, Cai JP. Expression of miR-21, miR-31, miR-96 and miR-135b is correlated with the clinical parameters of colorectal cancer. *Oncol Lett* 2012; 4: 339-345 [PMID: 22844381]
14 Cekaite L, Rantala JK, Bruun J, Guriby M, Agesen TH, Danielsen SA, Lind GE, Nesbakken A, Kallioniemi O, Lothe RA, Skotheim RI. MiR-9, -31, and -182 deregulation promote proliferation and tumor cell survival in colon cancer. *Neoplasia* 2012; 14: 868-879 [PMID: 23019418]
15 Mihelich BL, Khramtsova EA, Arva N, Vaishnav A, Johnson DN, Giangreco AA, Martens-Uzunova E, Bagasra O, Kajdacsy-Balla A, Nonn L. miR-183-96-182 cluster is overexpressed in prostate tissue and regulates zinc homeostasis in prostate cells. *J Biol Chem* 2011; 286: 44503-44511 [PMID: 22045813 DOI: 10.1074/jbc.M111.262915]
16 Zhu J, Feng Y, Ke Z, Yang Z, Zhou J, Huang X, Wang L. Down-regulation of miR-183 promotes migration and invasion of osteosarcoma by targeting Ezrin. *Am J Pathol* 2012; 180: 2440-2451 [PMID: 22525461 DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.02.023]
17 Li J, Liang S, Jin H, Xu C, Ma D, Lu X. Tiam1, negatively regulated by miR-22, miR-183 and miR-31, is involved in migration, invasion and viability of ovarian cancer cells. *Oncol Rep* 2012; 27: 1835-1842 [PMID: 22469921]
18 Healy NA, Heneghan HM, Miller N, Osborne CK, Schiff R, Kerin MJ. Systemic mirnas as potential biomarkers for malignancy. *Int J Cancer* 2012; 131: 2215-2222 [PMID: 22618667 DOI: 10.1002/ijc.27642]
19 Brase JC, Wuttig D, Kuner R, Sültmann H. Serum microRNAs as non-invasive biomarkers for cancer. *Mol Cancer* 2010; 9: 306 [PMID: 21110877 DOI: 10.1186/1476-4598-9-306]
20 Diehl P, Fricke A, Sander L, Stamm J, Bassler N, Htun N, Ziemann M, Helbing T, El-Osta A, Jowett JB, Peter K. Microparticles: major transport vehicles for distinct microRNAs in circulation. *Cardiovasc Res* 2012; 93: 633-644 [PMID: 22258631 DOI: 10.1093/cvr/cvs007]
21 Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, Fritz BR, Wyman SK, Pogosova-Agadjanyan EL, Peterson A, Noteboom J, O'Briant KC, Allen A, Lin DW, Urban N, Drescher CW, Knudsen BS, Stirewalt DL, Gentleman R, Vessella RL, Nelson PS, Martin DB, Tewari M. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 10513-10518 [PMID: 18663219 DOI: 10.1073/pnas.0804549105]
22 Zhu W, Liu X, He J, Chen D, Hunag Y, Zhang YK. Overexpression of members of the microRNA-183 family is a risk factor for lung cancer: a case control study. *BMC Cancer* 2011; 11: 393 [PMID: 21920043 DOI: 10.1186/1471-2407-11-393]

编辑 田滢 电编 闫晋利

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2013年6月8日; 21(16): 1493-1497
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

ERCC1在食管癌顺铂化疗中的作用

赵洪礼, 韩 莎, 李 琳, 丁敬献, 杨景玉

赵洪礼, 李琳, 丁敬献, 杨景玉, 山东省消化系统疾病防治中心 山东省济宁市 272033
韩莎, 济宁医学院中心实验室 山东省济宁市 272067
赵洪礼, 主治医师, 主要从事消化系肿瘤的相关研究.
作者贡献分布: 本文综述由赵洪礼、韩莎、李琳及丁敬献完成; 杨景玉负责审校.
通讯作者: 杨景玉, 副主任医师, 272033, 山东省济宁市太白中路11号, 山东省消化系统疾病防治中心.
yangjingyu3368@sina.com
电话: 0537-2359662
收稿日期: 2013-03-12 修回日期: 2013-04-07
接受日期: 2013-04-27 在线出版日期: 2013-06-08

Role of ERCC1 in cisplatin resistance in esophageal cancer

Hong-Li Zhao, Sha Han, Lin Li, Jing-Xian Ding, Jing-Yu Yang

Hong-Li Zhao, Lin Li, Jing-Xian Ding, Jing-Yu Yang, Shandong Control Center for Digestive Diseases, Jining 272033, Shandong Province, China
Sha Han, Life Science Experimental Center, Jining Medical University, Jining 272067, Shandong Province, China
Correspondence to: Jing-Yu Yang, Associate Chief Physician, Shandong Control Center for Digestive Diseases, 11 Taibai Middle Road, Jingning 272033, Shandong Province, China. yangjingyu3368@sina.com
Received: 2013-03-12 Revised: 2013-04-07
Accepted: 2013-04-27 Published online: 2013-06-08

Abstract

Cisplatin is one of several chemotherapeutic drugs commonly used to treat esophageal cancer. Nucleotide excision repair (NER) pathway plays an important role in repairing cisplatin-caused DNA damage. It has been demonstrated recently that the key enzyme of this pathway, excision repair crosscomplimenting 1 (ERCC1), is a factor determining cisplatin resistance and patient's response to cisplatin treatment. Further studies on the relationship between ERCC1 and cisplatin resistance will improve our understanding of cisplatin resistance in patients with esophageal cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Excision repair cross-complimenting 1; Cisplatin resistance; Esophageal cancer

Zhao HL, Han S, Li L, Ding JX, Yang JY. Role of ERCC1 in cisplatin resistance in esophageal cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(16): 1493-1497 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1493.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1493

摘要

顺铂是治疗食管癌的常用化疗药物, 但其耐药性的产生是临床上的重大挑战. 核苷酸切除修复是细胞修复顺铂造成的DNA损伤的重要途径, 近年来的研究发现这条途径的关键酶切除修复交叉互补基因1在决定顺铂耐药和患者对顺铂治疗的反应中起很大作用, 深入研究此蛋白和顺铂耐药的关系对进一步理解食管癌的顺铂耐药有重要作用.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 切除修复交叉互补基因1; 顺铂耐药; 食管癌

核心提示: 准确预测肿瘤患者对治疗的反应是肿瘤治疗的一大挑战. 切除修复交叉互补基因1(excision repair crosscomplimenting 1)有望成为预测食管癌, 肺癌等多种肿瘤对顺铂治疗反应的标志物, 但仍需进一步大样本的研究并解决抗体特异性等问题.

赵洪礼, 韩莎, 李琳, 丁敬献, 杨景玉. ERCC1在食管癌顺铂化疗中的作用. 世界华人消化杂志 2013; 21(16): 1493-1497 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1493.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1493

0 引言

食管癌是中国常见的肿瘤, 虽然有放化疗, 手术等多种治疗手段, 其死亡率依然很高[1-3]. 顺铂自上世纪60年代偶然发现具有抗肿瘤活性以来[4,5], 一直是临床常用的抗肿瘤药物, 是治疗睾丸癌[6]、卵巢癌[6]、头颈部鳞癌[6]、食管癌[7,8]等的一线用药, 但顺铂耐药的发生是治疗失败的重要原因[9,10]. 核苷酸切除修复(nucleotide excision repair, NER)是细胞修复顺铂造成的DNA损伤的重要途径[11], 同时增高的NER是顺铂耐药的原因之一[12]. 切除修复交叉互补基因1(excision repair

■背景资料
切除修复交叉互补基因1(excision repair crosscomplimenting 1, *ERCC1*)是肿瘤细胞修复顺铂导致的DNA损伤的关键蛋白, 食管癌患者肿瘤表达此蛋白的高低可能成为预测患者对顺铂治疗反应性的标志物.

■同行评议者
陈洪, 副教授, 主任医师, 东南大学附属中大医院消化科; 张力为, 副教授, 新疆医科大学第一附属医院胸外科

■相关报道
Huang等研究了46位接受紫杉醇+顺铂治疗的转移性食管癌的患者, 发现ERCC1低表达(利用免疫组织化学检测)的患者对治疗的反应更好, 中位生存期更长.

crosscomplimenting 1, *ERCC1*)是NER的关键酶, 在顺铂耐药和对顺铂治疗的反应中起重要作用. 本文就近年来在ERCC1与食管癌顺铂耐药方面取得的进展作一综述.

1 顺铂导致肿瘤细胞损伤的机制

顺铂进入细胞后, 其铂原子与DNA的嘌呤碱基的N7位置共价结合[9], 形成链内交联等单加成物[13], 引发细胞毒[14]. 这些DNA加合物的形成改变了DNA的结构, 阻碍DNA的复制和转录[11], 这些都能够被细胞蛋白识别, 引发DNA损伤反应[9], 导致细胞周期停滞[15]、加成物移除、DNA修复[16]、衰老[17-19]和细胞凋亡[20,21]. 细胞DNA修复有多种方法, 这些修复系统有损于我们希望看到的顺铂的细胞不良反应[22]. 其中核苷酸切除修复是切除顺铂-DNA加成物, 修复顺铂造成的DNA损伤的最主要方法[11].

2 核苷酸切除修复

NER是存在最普遍的进化保守的DNA修复方式[23,24], 能够清除多种DNA损伤, 包括紫外线导致的光损伤, 环氧二醇苯并芘和顺铂导致的DNA加成物等. NER修复过程可分为5步[25]: (1)DNA损伤的识别; (2)在损伤部位的两端引入切割酶; (3)切下损伤的核苷酸片段; (4)以互补链为模板合成新的核苷酸填补缺口; (5)DNA连接酶连接缺口完成修复. 根据NER是如何起始的, NER分为2条亚通路, 转录偶联的NER(transcription-coupled NER, TC-NER), 由转录过程中的RNA聚合酶Ⅱ复合物遇到阻碍(如顺铂-DNA加成物)停滞而起始的, 能够快速的修复活跃转录的基因的转录链的损伤. 停滞的RNA聚合酶Ⅱ复合物招募CSB和CSA, 二者进一步招募其他多种蛋白, 其中包括TFIIS[26]; 全基因组NER(global genome-NER, GG-NER), 不依赖转录, 能够修复全部的DNA损伤, 由UV-DDB和XPC-RAD23B-centrin 2蛋白复合物识别并结合到DNA损伤处始动[26]. DNA损伤识别步骤完成后, 2个亚通路汇合, 即剩余的切割、移除、合成新DNA片段和连接的步骤相同. DNA损伤识别蛋白随后结合TFIIS, 这是一个有多个蛋白组成的复合物, 包括XPB、p62、p52、p44、p34、p8、XPD和XPG[27]. TFIIS可以依赖XPB的ATP酶活性将DNA解链, 形成一个有27个核苷酸组成的气泡状的包含损伤DNA的结构, 而RPA、XPA、XPB、XPD等蛋白有稳定这个气泡状结构的功能. 然后结构特异性核算内切酶XPG和ERCC1-XPF被激活, 分别切断3'和5'端, 形成一段24-32个核苷酸组成的包含损伤DNA的片段, 并将其脱离DNA. 而由此形成的单链DNA缺口由DNA合成酶合成的新的DNA片段填补. 最后, 新合成的DNA片段与原DNA之间的断口有DNA连接酶Ⅲ-ERCC1和DNA连接酶Ⅰ缝接上从而完成修复的整个过程[26].

3 ERCC1与食管癌对顺铂治疗的敏感性

ERCC1的表达与多种肿瘤对化疗药物的敏感性相关, 如肺癌、胃癌、也包括食管癌[28-33]. 在食管癌治疗中, 顺铂为常用药物[7,8], 但并非所有患者都会从顺铂治疗或包含顺铂的放化疗中受益[9,10]. 因此许多研究都关注肿瘤ERCC1的表达与顺铂敏感性的关系, 特别是研究此蛋白能否作为患者从以顺铂为基础的放化疗中受益的指标. Lee等[34]利用免疫组织化学研究了72例转移食管鳞癌患者的ERCC1的表达, 发现高ERCC1表达是无进展生存期和总体生存期的不良预后指标. 不仅仅是蛋白质, ERCC1 mRNA的高表达也与食管癌患者的不良的总体生存期相关, ERCC1 mRNA高表达也与患者的肿瘤复发相关, ERCC1>3.0的患者的复发率是其他患者的2倍[35]. Tanaka等[36]研究了16例食管鳞癌患者的ERCC1的表达, 发现相对于正常组织, ERCC1蛋白在肿瘤组织中高表达, 对顺铂为基础的放化疗产生部分反应的患者的ERCC1表达量明显低于对此治疗方案无反应的患者的表达量. Kim等[37]研究所包含的食管癌患者首先接收了顺铂+5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-Fu)+放疗或顺铂+卡培他滨+放疗的化疗治疗, 其后是化疗前肿瘤内镜活检组织ERCC1低表达的患者更可能产生组织学显著反应, 这些患者也表现出更长的无病生存期和整体生存期的趋势. 另一组的研究[38]得到了相似的结论, 36例局部进展期食管癌患者接受了顺铂+5-Fu+放疗的治疗方案, 然后手术. 结果显示只有ERCC1低表达的患者才会产生组织学显著反应, 才会从这个治疗方案受益. 中国协和医科大学Huang等[39]研究了复发或转移食管癌患者, 这些患者接受紫杉醇+顺铂治疗方案, 然后每8 wk进行影像学检测以确定患者对治疗的反应. 他们发现ERCC1免疫组织化学阴性的患者治疗反应性更高. 樊青霞等[40]和李笑秋等[41]分别利用RT-PCR和免疫组织化学检测了食管癌患者的肿瘤组织的ERCC1表达, 发现

ERCC1表达与患者对顺铂+5-Fu或奈达铂+5-Fu的治疗反应密切相关, 但与患者年龄、性别、肿瘤分期、分级等无关. 另外有意思的是, 食管癌患者血液中肿瘤细胞ERCC1 mRNA的表达相对较高者容易对包含顺铂的放化疗产生轻微治疗反应[42], 若这个结论被进一步证实, 将为通过更方便的检测ERCC1预测患者治疗反应奠定基础. 综上所述, 在治疗前肿瘤组织中ERCC1的表达可能成为顺铂为基础的放化疗治疗方案的选择的良好指标, 可以预测哪些患者可能从这个治疗方案中受益, 而哪些患者不会对治疗产生反应.

*ERCC1*基因的多态性, 因为能够影响其mRNA、蛋白表达和蛋白活性, 也可以影响肿瘤对顺铂治疗的反应性. Metzger等[43]研究表明rs11615的多态性与食管腺癌对顺铂+5-Fu+放疗的治疗方案的反应性相关. 在顺铂治疗的患者中, ERCC1 8092 A/A, A/C的患者, 相比于C/C的患者更可能存活更长时间[44-46], 并显示出对顺铂治疗更好的治疗反应. 但在非顺铂治疗患者中, 此关系并不存在[37]. 同时研究发现另一个位于第4外显子的多态位点ERCC1 C118T也与食管癌患者对顺铂+5-Fu+放疗的反应相关, 70%的C/T基因型患者对此治疗方案有反应, 而T/T基因型患者中只有20%对此方案有反应[47].

此外, *ERCC1*基因启动子甲基化同样可影响ERCC1的表达, 如在胶质瘤中, ERCC1启动子的超甲基化与其mRNA, 蛋白质表达水平成反比, 与胶质瘤细胞对顺铂的抵抗相关[48], 但在食管癌中还未见类似研究.

4 存在问题

当前绝大多数对于ERCC1与食管癌对顺铂治疗反应性的研究都是回顾性的, 且包含的病例数较少, 为解答两者间的确切关系, 需要大样本前瞻性研究. 另外在病例选择时, 因为有研究显示患者接受顺铂为基础的放化疗治疗后ERCC1表达改变[36,49,50], 所以选择初次治疗前的病理组织进行研究可能是最恰当的. 另外需要特别注意的是, 有文章指出ERCC1最常用的抗体(8F1克隆)在免疫组织化学中存在与PCYT1A蛋白交叉反应的问题[51], 最近的文章[52]又进一步发现在ERCC1的16种抗体中, 没有一种能够区分ERCC1的4种蛋白亚型, 而在这4种亚型中只有一种能产生完全的核苷酸切除修复能力和顺铂抵抗能力. 作者同时指出ERCC1抗体(8F1克隆)的功能可能在2006年以后发生了改变. 这些抗体的交叉反应和低特异性问题使我们更难解释ERCC1与肿瘤顺铂抵抗的真正关系.

5 结论

选择出对患者有明显反应的治疗方案, 对提高疗效, 减少不必要治疗, 降低患者负担有重要意义. ERCC1作为肿瘤修复顺铂导致的细胞损伤的重要蛋白, 对预测患者对顺铂为基础的放化疗治疗方案的反应性显示出较好的前景.

■创新盘点

本文总结了ERCC1的表达、多态性等与食管癌患者对顺铂治疗反应性的关系, 并概括了当前研究中存在的问题, 内容新颖, 资料详实.

6 参考文献

1 Chen WQ, Zhang SW, Zou XN, Zhao P. Cancer incidence and mortality in china, 2006. *Chin J Cancer Res* 2011; 23: 3-9 [PMID: 23467577 DOI: 10.1007/s11670-011-0003-9]

2 Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2012; 62: 10-29 [PMID: 22237781 DOI: 10.3322/caac.20138]

3 Chen CZ, Chen JZ, Li DR, Lin ZX, Zhou MZ, Li DS, Chen ZJ. Long-term outcomes and prognostic factors for patients with esophageal cancer following radiotherapy. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 1639-1644 [PMID: 23539205 DOI: 10.3748/wjg.v19.i10.1639]

4 Rosenberg B, Vancamp L, Krigas T. Inhibition of Cell Division in Escherichia Coli by Electrolysis Products from A Platinum Electrode. *Nature* 1965; 205: 698-699 [PMID: 14287410 DOI: 10.1038/205698a0]

5 Rosenberg B, VanCamp L, Trosko JE, Mansour VH. Platinum compounds: a new class of potent antitumour agents. *Nature* 1969; 222: 385-386 [PMID: 5782119 DOI: 10.1038/222385a0]

6 Cohen SM, Lippard SJ. Cisplatin: from DNA damage to cancer chemotherapy. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol* 2001; 67: 93-130 [PMID: 11525387 DOI: 10.1016/S0079-6603(01)67026-0]

7 梅齐, 汪勇, 李睿, 陈元. 伊立替康联合顺铂治疗晚期食管癌27例. 世界华人消化杂志 2008; 16: 2300-2303

8 李向柯, 樊青霞. 食管癌药物治疗的研究进展. 世界华人消化杂志 2012; 20: 3482-3487

9 Siddik ZH. Cisplatin: mode of cytotoxic action and molecular basis of resistance. *Oncogene* 2003; 22: 7265-7279 [PMID: 14576837 DOI: 10.1038/sj.onc.1206933]

10 Galluzzi L, Senovilla L, Vitale I, Michels J, Martins I, Kepp O, Castedo M, Kroemer G. Molecular mechanisms of cisplatin resistance. *Oncogene* 2012; 31: 1869-1883 [PMID: 21892204 DOI: 10.1038/onc.2011.384]

11 Jung Y, Lippard SJ. Direct cellular responses to platinum-induced DNA damage. *Chem Rev* 2007; 107: 1387-1407 [PMID: 17455916 DOI: 10.1021/cr068207j]

12 Kelland L. The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. *Nat Rev Cancer* 2007; 7: 573-584 [PMID: 17625587 DOI: 10.1038/nrc2167]

13 Kartalou M, Essigmann JM. Recognition of cisplatin adducts by cellular proteins. *Mutat Res* 2001; 478: 1-21 [PMID: 11406166 DOI: 10.1016/S0027-5107(01)00142-7]

14 Pinto AL, Lippard SJ. Binding of the antitumor drug cis-diamminedichloroplatinum(II) (cisplatin)

■同行评价

本文综合描述了ERCC1在决定食管癌患者顺铂耐药和患者对顺铂治疗反应中起的作用, 该综述立意较好, 有一定的临床参考价值.

to DNA. *Biochim Biophys Acta* 1985; 780: 167-180 [PMID: 3896310]

15 Zhou BB, Elledge SJ. The DNA damage response: putting checkpoints in perspective. *Nature* 2000; 408: 433-439 [PMID: 11100718 DOI: 10.1038/35044005]

16 Harper JW, Elledge SJ. The DNA damage response: ten years after. *Mol Cell* 2007; 28: 739-745 [PMID: 18082599 DOI: 10.1016/j.molcel.2007.11.015]

17 Fang K, Chiu CC, Li CH, Chang YT, Hwang HT. Cisplatin-induced senescence and growth inhibition in human non-small cell lung cancer cells with ectopic transfer of p16INK4a. *Oncol Res* 2007; 16: 479-488 [PMID: 18196872 DOI: 10.3727/096504007783338331]

18 Wang X, Wong SC, Pan J, Tsao SW, Fung KH, Kwong DL, Sham JS, Nicholls JM. Evidence of cisplatin-induced senescent-like growth arrest in nasopharyngeal carcinoma cells. *Cancer Res* 1998; 58: 5019-5022 [PMID: 9823301]

19 von Zglinicki T, Saretzki G, Ladhoff J, d'Adda di Fagagna F, Jackson SP. Human cell senescence as a DNA damage response. *Mech Ageing Dev* 2005; 126: 111-117 [PMID: 15610769 DOI: 10.1016/j.mad.2004.09.034]

20 Roos WP, Kaina B. DNA damage-induced cell death by apoptosis. *Trends Mol Med* 2006; 12: 440-450 [PMID: 16899408 DOI: 10.1016/j.molmed.2006.07.007]

21 Roos WP, Kaina B. DNA damage-induced cell death: From specific DNA lesions to the DNA damage response and apoptosis. *Cancer Lett* 2013; 332: 237-248 [PMID: 22261329 DOI: 10.1016/]

22 Wang D, Lippard SJ. Cellular processing of platinum anticancer drugs. *Nat Rev Drug Discov* 2005; 4: 307-320 [PMID: 15789122 DOI: 10.1038/nrd1691]

23 Petit C, Sancar A. Nucleotide excision repair: from E. coli to man. *Biochimie* 1999; 81: 15-25 [PMID: 10214906 DOI: 10.1016/S0300-9084(99)80034-0]

24 Rouillon C, White MF. The evolution and mechanisms of nucleotide excision repair proteins. *Res Microbiol* 2011; 162: 19-26 [PMID: 20863882 DOI: 10.1016/j.resmic.2010.09.003]

25 Wood RD. Nucleotide excision repair in mammalian cells. *J Biol Chem* 1997; 272: 23465-23468 [PMID: 9295277 DOI: 10.1074/jbc.272.38.23465]

26 Kamileri I, Karakasilioti I, Garinis GA. Nucleotide excision repair: new tricks with old bricks. *Trends Genet* 2012; 28: 566-573 [PMID: 22824526 DOI: 10.1016/j.tig.2012.06.004]

27 Egly JM, Coin F. A history of TFIIH: two decades of molecular biology on a pivotal transcription/repair factor. *DNA Repair* (Amst) 2011; 10: 714-721 [PMID: 21592869 DOI: 10.1016/j.dnarep.2011.04.021]

28 Kirschner K, Melton DW. Multiple roles of the ERCC1-XPF endonuclease in DNA repair and resistance to anticancer drugs. *Anticancer Res* 2010; 30: 3223-3232 [PMID: 20944091]

29 McNeil EM, Melton DW. DNA repair endonuclease ERCC1-XPF as a novel therapeutic target to overcome chemoresistance in cancer therapy. *Nucleic Acids Res* 2012; 40: 9990-10004 [PMID: 22941649 DOI: 10.1093/nar/gks818]

30 Liu YP, Ling Y, Qi QF, Zhang YP, Zhang CS, Zhu CT, Wang MH, Pan YD. The effects of ERCC1 expression levels on the chemosensitivity of gastric cancer cells to platinum agents and survival in gastric cancer patients treated with oxaliplatin-based adjuvant chemotherapy. *Oncol Lett* 2013; 5: 935-942 [PMID: 23426424 DOI: 10.3892/ol.2012.1096]

31 Metzger R, Leichman CG, Danenberg KD, Danenberg PV, Lenz HJ, Hayashi K, Groshen S, Salonga D, Cohen H, Laine L, Crookes P, Silberman H, Baranda J, Konda B, Leichman L. ERCC1 mRNA levels complement thymidylate synthase mRNA levels in predicting response and survival for gastric cancer patients receiving combination cisplatin and fluorouracil chemotherapy. *J Clin Oncol* 1998; 16: 309-316 [PMID: 9440758]

32 Lee SH, Noh KB, Lee JS, Lee EJ, Min KH, Hur GY, Lee SH, Lee SY, Kim JH, Lee SY, Shin C, Shim JJ, Kim CH, Kang KH, In KH. Thymidylate synthase and ERCC1 as predictive markers in patients with pulmonary adenocarcinoma treated with pemetrexed and cisplatin. *Lung Cancer* 2013 Mar 21. *[Epub ahead of print]* [PMID: 23523421 DOI: 10.1016/j.lungcan.2013.03.002]

33 Papadaki C, Sfakianaki M, Ioannidis G, Lagoudaki E, Trypaki M, Tryfonidis K, Mavroudis D, Stathopoulos E, Georgoulias V, Souglakos J. ERCC1 and BRAC1 mRNA expression levels in the primary tumor could predict the effectiveness of the second-line cisplatin-based chemotherapy in pretreated patients with metastatic non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 2012; 7: 663-671 [PMID: 22425915 DOI: 10.1097/JTO.0b013e318244bdd4]

34 Lee S, Park YH, Kim KH, Cho EY, Ahn YC, Kim K, Shim YM, Ahn JS, Park K, Im YH. Thymidine synthase, thymidine phosphorylase, and excision repair cross-complementation group 1 expression as predictive markers of capecitabine plus cisplatin chemotherapy as first-line treatment for patients with advanced oesophageal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* 2010; 103: 845-851 [PMID: 20700125 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605831]

35 Joshi MB, Shirota Y, Danenberg KD, Conlon DH, Salonga DS, Herndon JE, Danenberg PV, Harpole DH. High gene expression of TS1, GSTP1, and ERCC1 are risk factors for survival in patients treated with trimodality therapy for esophageal cancer. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 2215-2221 [PMID: 15788669 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-04-1387]

36 Tanaka K, Mohri Y, Ohi M, Yokoe T, Koike Y, Morimoto Y, Miki C, Tonouchi H, Kusunoki M. Excision-repair cross-complementing 1 predicts response to cisplatin-based neoadjuvant chemoradiotherapy in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Mol Med Rep* 2009; 2: 903-909 [PMID: 21475919 DOI: 10.3892/mmr_00000190]

37 Kim MK, Cho KJ, Kwon GY, Park SI, Kim YH, Kim JH, Song HY, Shin JH, Jung HY, Lee GH, Choi KD, Kim SB. ERCC1 predicting chemoradiation resistance and poor outcome in oesophageal cancer. *Eur J Cancer* 2008; 44: 54-60 [PMID: 17976974 DOI: 10.1016/j.ejca.2007.09.006]

38 Warnecke-Eberz U, Metzger R, Miyazono F, Baldus SE, Neiss S, Brabender J, Schaefer H, Doerfler W, Bollschweiler E, Dienes HP, Mueller RP, Danenberg PV, Hoelscher AH, Schneider PM. High specificity of quantitative excision repair cross-complementing 1 messenger RNA expression for prediction of minor histopathological response to neoadjuvant radiochemotherapy in esophageal cancer. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 3794-3799 [PMID: 15173087 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-03-0079]

39 Huang J, Zhou Y, Zhang H, Qu T, Mao Y, Zhu H,

Quan L, Xing P, Wang J, He J, Xu N, Sun Y. A phase II study of biweekly paclitaxel and cisplatin chemotherapy for recurrent or metastatic esophageal squamous cell carcinoma: ERCC1 expression predicts response to chemotherapy. *Med Oncol* 2013; 30: 343 [PMID: 23263828 DOI: 10.1007/s12032-012-0343-4]

40 樊青霞, 邢国臣, 吴欣爱, 王瑞林, 王留兴, 李醒亚, 李景云, 宗红. 化疗前食管癌组织中ERCC1mRNA检测对化疗疗效的预测价值. 郑州大学学报(医学版) 2005; 40: 64-67

41 李笑秋, 胡冰, 王刚, 季楚舒, 江丰收, 王勇, 孙玉蓓, 姚艺玮. ERCC1表达水平与晚期食管癌患者含奈达铂方案化疗疗效的相关性. 安徽医科大学学报 2010; 45: 789-791

42 Brabender J, Vallböhmer D, Grimminger P, Hoffmann AC, Ling F, Lurje G, Bollschweiler E, Schneider PM, Hölscher AH, Metzger R. ERCC1 RNA expression in peripheral blood predicts minor histopathological response to neoadjuvant radiochemotherapy in patients with locally advanced cancer of the esophagus. *J Gastrointest Surg* 2008; 12: 1815-1821 [PMID: 18769985 DOI: 10.1007/s11605-008-0668-7]

43 Metzger R, Warnecke-Eberz U, Alakus H, Kütting F, Brabender J, Vallböhmer D, Grimminger PP, Mönig SP, Drebber U, Hölscher AH, Bollschweiler E. Neoadjuvant radiochemotherapy in adenocarcinoma of the esophagus: ERCC1 gene polymorphisms for prediction of response and prognosis. *J Gastrointest Surg* 2012; 16: 26-34; discussion 34 [PMID: 21956434 DOI: 10.1007/s11605-011-1700-x]

44 Bradbury PA, Kulke MH, Heist RS, Zhou W, Ma C, Xu W, Marshall AL, Zhai R, Hooshmand SM, Asomaning K, Su L, Shepherd FA, Lynch TJ, Wain JC, Christiani DC, Liu G. Cisplatin pharmacogenetics, DNA repair polymorphisms, and esophageal cancer outcomes. *Pharmacogenet Genomics* 2009; 19: 613-625 [PMID: 19620936 DOI: 10.1097/FPC.0b013e32832f3010]

45 Wang Y, Chen J, Li X, He Y, Hu B, Ji C, Xu J. Genetic polymorphisms of ERCC1 and their effects on the efficacy of cisplatin-based chemotherapy in advanced esophageal carcinoma. *Oncol Rep* 2011; 25: 1047-1052 [PMID: 21286668 DOI: 10.3892/or.2011.1170]

46 陈健, 何义富, 季楚舒, 胡长路, 范平生, 胡冰. ERCC1和TS基因多态性在预测顺铂联合5-氟尿嘧啶治疗晚期食管癌疗效中的意义. 肿瘤 2010; 30: 314-321

47 Warnecke-Eberz U, Vallböhmer D, Alakus H, Kütting F, Lurje G, Bollschweiler E, Wienand-Dorweiler A, Drebber U, Hölscher AH, Metzger R. ERCC1 and XRCC1 gene polymorphisms predict response to neoadjuvant radiochemotherapy in esophageal cancer. *J Gastrointest Surg* 2009; 13: 1411-1421 [PMID: 19421825 DOI: 10.1007/s11605-009-0881-z]

48 Chen HY, Shao CJ, Chen FR, Kwan AL, Chen ZP. Role of ERCC1 promoter hypermethylation in drug resistance to cisplatin in human gliomas. *Int J Cancer* 2010; 126: 1944-1954 [PMID: 19626585 DOI: 10.1002/ijc.24772]

49 Schneider S, Uchida K, Brabender J, Baldus SE, Yochim J, Danenberg KD, Salonga D, Chen P, Tsao-Wei D, Groshen S, Hoelscher AH, Schneider PM, Danenberg PV. Downregulation of TS, DPD, ERCC1, GST-Pi, EGFR, and HER2 gene expression after neoadjuvant three-modality treatment in patients with esophageal cancer. *J Am Coll Surg* 2005; 200: 336-344 [PMID: 15737843 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2004.10.035]

50 Li W, Melton DW. Cisplatin regulates the MAPK kinase pathway to induce increased expression of DNA repair gene ERCC1 and increase melanoma chemoresistance. *Oncogene* 2012; 31: 2412-2422 [PMID: 21996734 DOI: 10.1038/onc.2011.426]

51 Ma D, Baruch D, Shu Y, Yuan K, Sun Z, Ma K, Hoang T, Fu W, Min L, Lan ZS, Wang F, Mull L, He WW. Using protein microarray technology to screen anti-ERCC1 monoclonal antibodies for specificity and applications in pathology. *BMC Biotechnol* 2012; 12: 88 [PMID: 23171216 DOI: 10.1186/1472-6750-12-88]

52 Friboulet L, Olaussen KA, Pignon JP, Shepherd FA, Tsao MS, Graziano S, Kratzke R, Douillard JY, Seymour L, Pirker R, Filipits M, André F, Solary E, Ponsonnailles F, Robin A, Stoclin A, Dorvault N, Commo F, Adam J, Vanhecke E, Saulnier P, Thomale J, Le Chevalier T, Dunant A, Rousseau V, Le Teuff G, Brambilla E, Soria JC. ERCC1 isoform expression and DNA repair in non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2013; 368: 1101-1110 [PMID: 23514287 DOI: 10.1056/NEJMoa1214271]

编辑 田滢 电编 闫晋利

世界华人消化杂志 2013年6月8日; 21(16): 1498-1504
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

骨桥蛋白与肝癌转移复发关系的研究进展

孙静云, 徐吉敏, 严 明, 叶 放

■背景资料
骨桥蛋白(osteopontin, OPN)是1979年Senger等首次报道一种转化特异性分泌蛋白, 和感染、动脉硬化等相关, 近来陆续发现和许多肿瘤细胞转化、浸润和转移有关. 有研究显示在有转移潜能的原发性癌时期就启动了与转移进程相关的分子程序, 且OPN为首要基因.

孙静云, 徐吉敏, 严明, 叶放, 南京中医药大学第一临床医学院 江苏省南京市 210000
孙静云, 主要从事肝脏疾病的相关研究.
江苏高校优势学科建设工程基金资助项目, No. YS2012ZYX109
江苏省科技厅基础研究计划基金资助项目, No. BK2010563
作者贡献分布: 本文综述由孙静云、徐吉敏及严明完成; 叶放负责审校.
通讯作者: 叶放, 教授, 硕士生导师, 210000, 江苏省南京市汉中路282号, 南京中医药大学第一临床医学院. yefang973@163.com
收稿日期: 2013-01-25 修回日期: 2013-04-20
接受日期: 2013-05-12 在线出版日期: 2013-06-08

Advances in understanding relationship between osteopontin and metastasis and recurrence of hepatocellular carcinoma

Jing-Yun Sun, Ji-Min Xu, Ming Yan, Fang Ye

Jing-Yun Sun, Ji-Min Xu, Ming Yan, Fang Ye, the First Clinical Medical College, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210000, Jiangsu Province, China
Supported by: the Project Funded by the Priority Academic Program Development of Jiangsu Higher Education Institutions, No. YS2012ZYX109; the Basic Research Program of Department of Science and Technology of Jiangsu Province, No. BK2010563
Correspondence to: Fang Ye, Professor, the First Clinical Medical College, Nanjing University of Chinese Medicine, 282 Hanzhong Road, Nanjing 210000, Jiangsu Province, China. yefang973@163.com
Received: 2013-01-25 Revised: 2013-04-20
Accepted: 2013-05-12 Published online: 2013-06-08

Abstract
Osteopontin (OPN), first found in normal human tissue, is a secreted phosphorylated glycoprotein and one of the most important adhesion factors. Increased expression of OPN has been found in many types of tumors. OPN plays a very important role in the metastasis and recurrence of hepatocellular carcinoma (HCC). As a tumor marker, OPN may also become a new therapeutic target for cancer. This review aims to elucidate the structure and function of OPN, its role in HCC recurrence and metastasis, and the significance of OPN in HCC diagnosis and treatment.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Osteopontin; Hepatocellular carcinoma; Metastasis; Recurrence

Sun JY, Xu JM, Yan M, Ye F. Advances in understanding relationship between osteopontin and metastasis and recurrence of hepatocellular carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(16): 1498-1504 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1498.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1498

摘要
骨桥蛋白(osteopontin, OPN)是一种分泌性磷酸化糖蛋白, 首先发现于人体正常组织中, 是重要的黏附因子之一. 随着研究的深入, 在许多肿瘤侵袭、进展及转移过程中亦可见OPN表达升高. OPN在肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的转移复发过程中占有重要地位, 是一种肿瘤标志物, 也可能成为一种新的抗癌治疗靶点. 本文对OPN的分子、生理特性, OPN在HCC转移复发中的相关机制, 诊断预测及治疗进行综述.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 骨桥蛋白; 肝癌; 转移; 复发

核心提示: 骨桥蛋白(osteopontin, OPN)在肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的转移复发中占有重要地位. 本文对OPN的分子、生理特性, 及OPN在HCC转移复发中的相关机制, 诊断预测及治疗进行综述.

孙静云, 徐吉敏, 严明, 叶放. 骨桥蛋白与肝癌转移复发关系的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(16): 1498-1504 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1498.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1498

0 引言
肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是癌症致死的第3大病因[1]. 现有手术、经动脉化疗栓塞、射频等用于临床HCC治疗, 但是由于高复发率和肝内转移, HCC的预后依然较差. 因此, 近年来, 人们更多的关注HCC转移复发的早期检测问题. 已知一些癌基因、生长因子等与HCC转

■同行评议者
戴朝六, 教授, 中国医科大学第二临床学院(盛京医院)肝胆外科; 单云峰, 副主任医师, 温州医学院第一附属医院肝胆外科

移复发密切相关, 寻找到一种或几种高特异性和敏感性的HCC转移复发的标志物成为当前研究的重点. Senger等[2]首先报道了骨桥蛋白(osteopontin, OPN)在恶性转化的细胞株中表达增高. 此后发现OPN在许多肿瘤中过表达, 参与肿瘤的转移和复发[3], 近来有关OPN与HCC转移复发相关研究也日益增多, 现将有关进展综述如下.

1 OPN分子特点和生理特点

OPN通常由骨、牙齿、肾脏及上皮细胞、激活的免疫细胞表达和分泌. 他首先发现于骨骼中, 是SLBLING(small integrin-binding ligand N-linked glycoprotein)家族中的一员. *OPN*基因定位在染色体4q13, 是单一编码基因, 8 kb大小, 由7个外显子和6个内含子组成, 其相对分子质量约为44 kDa, 约含300个氨基酸残基, 包含精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(Arg-Gly-Asp, RGD)序列、凝血酶裂解位点、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMP)作用位点、非RGD细胞黏附位点和钙离子结合位点.

OPN的生理功能主要有: (1)介导细胞黏附. OPN通过细胞黏附序列RGD和非依赖RGD序列与细胞表面的多种整合素受体(αv3、αvβ5、CD44v6)结合, 通过某些机制与细胞外基质(extracellular matrix, ECM)结合, 参与细胞的黏附、迁移和增殖; (2)调节矿化组织的形成与重建; (3)免疫应答. OPN曾被称为早期T淋巴细胞活性蛋白, 在细胞免疫应答过程中, OPN是重要的也是最早期起作用的细胞因子, 可增强Th1的表达并抑制Th2的表达; (4)抑制细胞凋亡. OPN与细胞表面αβ3整合素结合, 活化核因子κB(nuclear factor-κB, NF-κB), 从而抑制细胞凋亡; (5)诱使新血管生成. OPN参与机体心血管、消化、免疫等系统代谢, 且在炎症反应和组织修复过程中起重要作用.

2 OPN与HCC转移复发的密切相关性

OPN除了参与人体正常的生理活动外, 亦参与炎症、肿瘤等病理过程[4,5]. 目前许多基础和临床研究证明OPN与肿瘤的发生、转移复发关系密切, 包括甲状腺癌[6]、胃癌[7]、前列腺癌[8]、肺癌[9]等. Coppola等[10]指出与正常组织比较, OPN在肿瘤组织中的表达明显增强, 在肿瘤转移[11,12]患者的血浆中, 亦检测到血浆OPN水平升高.

Pan等[13]使用差异显示法分析发现在HCC患者中OPN mRNA优先增高, RNA印迹法证实了这一结果; 使用RT-PCR分析240例单病灶HCC手术切除患者, 结果示OPN mRNA在133例患者中过表达, 且OPN的过表达与AFP升高、*p53*突变、肿瘤体积大、分期晚、分级高、早期复发转移以及10年低生存率有关. 此外, Xie等[14]随访72例乙型肝炎相关的HCC患者, 发现OPN过表达与包膜浸润、门静脉侵袭、淋巴结转移及预后差相关. 而Wu等[15]发现HCC组织中OPN表达水平与Edmondson分级、血管或胆管侵袭、肝内转移相关, 与乙型肝炎表面抗原、血清甲胎蛋白(α-fetoprotein, AFP)、肝纤维化、肿瘤大小和结节数目、包膜浸润、肝外侵袭、TNM分级无明显相关性. Ye等[16]发现伴随转移的原发性HCC与相应的转移癌的基因表达特点相似, 指出在有转移潜能的原发性癌时期就启动了与转移进程相关的分子程序; *OPN*作为首要基因, 在转移性HCC中过表达, 体外OPN特异性抗体有效的抑制了HCC细胞的侵袭及在裸鼠体内的肺转移, 建议OPN可作为转移性HCC的诊断标志物及治疗靶点.

3 OPN参与HCC转移复发机制研究

3.1 OPN不同亚型及片段

OPN的不同亚型是造成其功能多样化的原因之一, Phillips等[17]研究发现体外OPN 3种亚型(OPN-a、OPN-b、OPN-c)都能以旁分泌的形式促进HCC细胞增殖. 有研究[18]显示在体外培养中, OPN-c较OPN-a更能促进乳腺癌非贴壁依赖细胞的增殖. Takafuji等[19]发现体外MMP-9切割OPN-c, 产生OPN-5 kDa, OPN-5 kDa通过与CD44受体结合从而诱使HCC细胞侵袭. Chae等[20]研究OPN的不同的亚型对有转移能力的HCC细胞系的影响, 发现有转移潜能的HCC细胞趋向于表达OPN-a和OPN-b, 而正常肝脏组织主要表达OPN-c, 指出OPN-a和OPN-b可通过增加尿激酶型纤溶酶原激活物表达和p42/p44 MAP激酶的磷酸化作用从而促进HCC细胞的转移活动, 但是OPN-c不能激活这些信号通路.

3.2 OPN与HCC细胞凋亡

细胞增殖, 细胞周期延长, 细胞凋亡抑制是肿瘤进展的重要环节[21]. 体外研究[22]发现OPN缺乏的小鼠血管平滑肌细胞, 其整合素α1β1介导的血管平滑肌细胞与胶原黏附能力下降, 且细胞凋亡增高. 在细胞的缺氧/再氧化过程中, Kim等[23]发现OPN经Caspase8蛋白

■研发前沿

(1)机制问题: OPN促进肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)转移复发的机制尚未完全明确; (2)应用于临床筛查: 血浆OPN在手术治疗前后的任何时候都可以通过非侵入性手段得到, 同时OPN与其他基因的联合诊断可与甲胎蛋白(α-fetoprotein, AFP)补充, 为HCC的诊断, 转移和复发提供参考; (3)靶点治疗: 开发针对或调控OPN的特异性药物.

■相关报道
OPN在许多肿瘤侵袭、进展及转移过程中过表达，是一种新的肿瘤标志物，也可能成为一种新的抗癌治疗靶点. 本文对OPN的分子、生理特性，及OPN在HCC转移复发中的相关机制，诊断预测及治疗进行综述.

水解作用所产生的片段通过P53蛋白调节细胞凋亡. Zhao等[24]使用SiRNA沉默HCC细胞OPN后，发现αv、β1和β3整合素表达及NF-κB激活受抑制，Bcl-2/Bcl-xL及XIAP表达水平下调，Bax蛋白表达上调，最终诱导线粒体介导的细胞凋亡进程. 使OPN表达下调能够抑制药物引导的NF-κB激活，且能够增加体外HCC细胞对化疗药物的敏感性及促进人HCC裸鼠异体移植瘤的完全消退.

3.3 OPN与HCC血管生成及血管拟态 肿瘤的持续生长及转移与血管的形成密切相关. 研究[25]发现在内皮细胞内，OPN可通过激活血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)参与的PI3K/AKT和ERK1/2通路，直接诱导肿瘤血管生成. 在HCC转移的小鼠模型内，VEGF/OPN-BsAb双抗体较VEGF-A单抗体能够明显抑制肿瘤血管生成[26]. 与经典肿瘤血管生成途径不同，血管拟态(vasculogenic mimicry, VM)是不依赖机体内皮细胞的全新肿瘤微循环模式，Liu等[27]比较两种HCC细胞系，相较于无转移潜能的Hep3B细胞系，有转移潜能的MHCC97-H细胞系VM生成，OPN表达增高，在HCC组织中VM形成与OPN、基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinases-2, MMP-2)及uPA呈明显正相关.

3.4 OPN与HCC细胞表面受体结合，参与HCC转移复发过程 Gao等[28]使用永生化肝细胞HepG2检测OPN与CD44两种亚型CD44标准型和CD44v6结合情况，发现OPN可能是通过与αv3整合素结合，增加质膜CD44v6的表达及与透明质酸盐(hyaluronicacid, HA)的黏附，从而达到促使HCC细胞转移. 张岚等[29]通过HCC组织芯片检测OPN下游的信号蛋白，发现OPN及其受体整合素αv、CD44v6和相关信号分子p-FAK、p-Src、Src、p-ERK、p-AKT在HCC组织中的表达水平均高于癌旁正常肝组织，指出OPN通过其受体整合素αV、CD44v6激活下游的丝裂原活化蛋白激酶途径以促使HCC转移.

恶性肿瘤细胞的侵袭和转移是一个动态过程. 首先肿瘤细胞从原发灶脱落，侵入到ECM，与基底膜和细胞外间质中的一些分子黏附，参与合成、分泌一些降解酶，在这些酶的协助下，肿瘤细胞完成逃逸过程. 在恶性肿瘤转移和复发过程中，MMPs的分泌水平及活性增高，参与细胞外基质的降解[30-32]. Chen等[33]通过持续转染使较弱致瘤性，非转移性人类HCC细胞系SMMC-7721细胞OPN过表达，发现其转移和侵袭能力较空染组细胞增强，MMP-2和uPA明显上调；且使用CD44v6抗体能够明显抑制OPN过表达的SMMC-7721细胞的侵袭活动，指出OPN通过与受体CD44v6的结合及上调MMP-2和uPA的表达，可能是其促进HCC细胞的侵袭的机制之一.

Sun等[34]使用3种慢病毒介导的microRNA抑制OPN表达，分别为Lenti.OPNi-1、Lenti.OPNi-2和Lenti.OPNi-3(下调OPN表达水平分别为62%、78%和95%)，发现Lenti.OPNi-2和Lenti.OPNi-3能够明显抑制HCC细胞的侵袭和转移，且只有Lenti.OPNi-3能够抑制HCC细胞增殖，并指出肿瘤生长所需的OPN水平低于其侵袭和转移所需量，OPN促进肿瘤转移除了与MAPK通路激活有关，还与NF-κB(P65)蛋白核转位，以及MMP-2产生/激活有关. 可见在HCC细胞转移复发过程中，OPN与整合素受体αV3和/或CD44 v6受体，激酶(如MAPKs)的活化，转录因子(如NF-κB)激活，基质降解酶(如MMPs, uPA)分泌等密切相关. 此外Xue等[35]发现体外凝血酶促进了OPN阳性的HCC细胞的增殖和附着，指出凝血酶可能是通过激活整联β1/FAK信号通路从而促进OPN阳性HCC细胞的增殖和侵袭活动.

4 OPN在HCC转移复发中诊断研究

目前AFP广泛应用于临床HCC的筛选和诊断，但是仍有假阳性和假阴性，约30%的HCC患者出现AFP假阴性，特别对于肝切除术后HCC转移复发患者仍缺少预测性诊断，从而错过最佳治疗时期.

4.1 血OPN对HCC转移复发的诊断学意义 HCC细胞产生大量OPN，部分释放入血，致使血浆OPN升高，且OPN在血中相对稳定，OPN的升高与AFP并不完全一致，研究[36,37]表明OPN监测较AFP更加灵敏. 刘兵团等[38]监测51例HCC患者的外周血OPN的表达水平并根据血清OPN表达曲线分析结果将血清OPN 76.2 μg/L作为诊断HCC的临床指标，其诊断HCC的灵敏度、特异性、阳性预测值和阴性预测值分别为90.2%、90.6%、93.8%、85.3%. Zhang等[39]研究发现，与正常对照组相比，101例HCC患者的血浆OPN水平明显较高(OPN中位数63.74 ng/mL *vs* 176.90 ng/mL，手术后复发患者的血浆OPN水平与未复发患者也有明显差异(213.55 ng/mL *vs* 153.70 ng/mL). Sun等[40]随诊68例HCC根除性切除术后患者，发现手术前血浆高OPN组(≥

100 ng/mL, n = 23)的肿瘤复发率明显高于血浆低OPN组(<100 ng/mL, n = 45), 建议将OPN值100 ng/mL作为预测TNM Ⅰ HCC预后的临界点. 张辉等[41]研究指出血浆OPN表达水平和HCC复发密切相关, 可以作为术后复发转移的预测指标, 建议将术后OPN值200 μg/L作为HCC高复发风险的临界点.

4.2 OPN与其他分子联合检测HCC早期转移复发 HCC的转移复发由多种基因参与, 分子病理学的发展为发现和证实肿瘤进展中特异表达的基因提供了很多方法, Hua等[42]使用含有15843个基因探针的cDNA阵谱检测HCC组织和正常肝脏组织的不同基因表达, 其中两种基因*OPN*和*S100A6*的表达差异>10倍, 使用免疫组织化学分析发现51例HCC患者中26例患者OPN表达, 16例患者S100A6表达, 而在11例正常对照组中未发现这些基因编码的蛋白质, 且OPN和S100A6与分化程度低的HCC密切相关.

Yang等[36]指出302例HCC切除患者中, OPN和CD44预测肿瘤再发的敏感性和特异性分别为27.8%和80.6%、40.5%和83.7%, 同时采用OPN和CD44预测时其敏感性和特异性分别为54.9%和70.5%, 在血清AFP正常组中, OPN和CD44联合预测肿瘤再发的敏感性和特异性分别为68.7%和61.9%, 为血清AFP阴性的HCC患者的肿瘤复发预测提供了重要价值. 研究[43]表明将*AFP*、*OPN*及*TATI* 3种基因的表达按照表达个数分成4组分别为0、1、2、3组, 在0组中门脉侵袭和肿瘤的早期复发发生率较低(分别为9%和19%)(P<1×10^{-8}), 而3组中门脉侵袭和ERT发生率(分别为70%和80%)(P<1×10^{-8})增加了4到7倍, 3种基因异常表达的数目越多, 5年生存率越低. 此外还有使用OPN与AFP[40], Caspase3[44], GPC3[45]的研究为OPN作为临床筛查及预测HCC转移复发的指标提供了一定的依据.

5 以OPN为治疗靶点防治HCC转移复发

随着分子生物学的发展, 分子靶向药物的研究已成为国内外研究的重点, HCC诊疗指南指出分子靶向治疗在控制HCC的肿瘤增殖, 预防和延缓复发转移以及提高患者的生存质量等方面可能具有独特的优势. 动物实验研究中, 以OPN为靶点的治疗能够有效抑制OPN高表达的HCC细胞系的转移活动[46]. Chen等[47]研究发现, 体外由经修饰的反义核苷酸(A 2'-O-methoxyethyl-ribosemodified phosphorothioate antisense oligonucleotides, ASO)下调OPN表达的HCCLM6细胞的转移和侵袭能力与作为对照的寡核苷酸组相比均明显下降, 将HCCLM6细胞移植进裸鼠体内, 使用OPN ASO明显降低了肺转移. RNA干扰(RNAi)技术亦可沉默基因[48,49], 林帆等[50]发现体外使用小干扰RNA(siRNA)沉默*OPN*基因表达对人HCC细胞株侵袭转移起到抑制作用. 转录因子是一种结构特殊、能够行使调控基因表达功能的蛋白质分子, OPN的表达受到众多转录调控元件和细胞因子的调控, 研究[51]发现11种转录因子在具有转移潜能的HCC细胞系HCCLM6中过表达, 另有11种转录因子表达下调, 其中一种上调转录因子c-Myb能够结合OPN启动子、增加其转录活动, 使用SiRNA沉默c-Myb则能抑制OPN表达, 同时能够明显抑制HCCLM6细胞系的迁移和侵袭活动.

OPN分子中含有凝血酶酶切位点, 而该酶切位点为进化保守序列, OPN被凝血酶裂解后的两个片段分别为整合素结合域和CD44结合域. Xue等[35]发现OPN过表达的HCC患者, 凝血酶的表达与肿瘤复发率及存活率密切相关, 体外研究发现凝血酶促进了OPN阳性的HCC细胞的增值和附着, 指出凝血酶可作为OPN阳性的HCC患者的治疗靶点. 此外Kou等[26]使用双抗体, 包括抗VEGF-A抗体bevacizumab和抗OPN抗体hu1A12(VEGF/OPN-BsAb), 能够有效抑制植入高转移性的人类HCC细胞的裸鼠模型的肿瘤血管生成, 且能够抑制原始肿瘤生长及肺转移.

6 结论

OPN与HCC转移复发的关系是值得肯定的, 但是我们亦知HCC转移复发是多因素参与的, OPN过表达并非唯一因素. 目前仍存有一些问题有待进一步探讨: (1)OPN促进HCC转移复发的机制尚未完全明确, 随着分子生物学的研究的发展, OPN介导的HCC转移复发机制将近一步完善; (2)大部分关于OPN预测HCC转移复发的研究对象局限于亚洲有慢性乙型肝炎感染、肝脏切除病史的患者, 有研究者[52]同时探讨导致肝硬化的其他病因对OPN表达的影响, 由于样本量少, 未能作出准切评估. Kim等[53]研究46例经动脉化疗栓塞的HCC患者血清OPN表达的预测价值, 发现血清OPN与肝脏疾病的潜在病因之间没有相关性, 是肿瘤本身影响血清OPN的表达. OPN与HCC的病因之间的关系如何, 需更大规模的样本数来检验; (3)关于血浆OPN与

■创新盘点

本文综述OPN的分子、生理特性, 及OPN在HCC转移复发中的相关机制, 诊断预测及治疗, 特别综述了近年关于OPN作为诊断HCC转移复发的标志物及治疗靶点的研究进展.

■应用要点
本文就OPN与HCC转移、复发的研究进展做了较为详细的综述，且指出目前研究中出现的问题？例如未能明确OPN参与HCC转移复发的具体机制，以OPN作为诊断及治疗靶点的研究实验虽取得一定进展，运用于临床仍需要进一步研究.

HCC转移复发的报道较少，血浆OPN在手术等治疗前后都可以通过非侵入性手段得到，为方便用于临床，今后需开展更多的动物实验及临床研究，同时OPN与其他HCC转移复发标记物的联合诊断可与AFP补充，为HCC的转移复发的诊断提供参考；(4)目前以HCCOPN靶向的药物研究较少，且仅限于实验室研究阶段，开发针对或调控OPN的特异性药物是今后的研究方向.

7 参考文献

1 Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010; 127: 2893-2917 [PMID: 21351269 DOI: 10.1002/ijc.25516]

2 Senger DR, Perruzzi CA, Papadopoulos A. Elevated expression of secreted phosphoprotein I (osteopontin, 2ar) as a consequence of neoplastic transformation. *Anticancer Res* 1989; 9: 1291-1299 [PMID: 2686530]

3 Anborgh PH, Mutrie JC, Tuck AB, Chambers AF. Role of the metastasis-promoting protein osteopontin in the tumour microenvironment. *J Cell Mol Med* 2010; 14: 2037-2044 [PMID: 20597997 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2010.01115.x]

4 Shevde LA, Das S, Clark DW, Samant RS. Osteopontin: an effector and an effect of tumor metastasis. *Curr Mol Med* 2010; 10: 71-81 [PMID: 20205680 DOI: 10.2174/156652410791065381]

5 Ramaiah SK, Rittling S. Pathophysiological role of osteopontin in hepatic inflammation, toxicity, and cancer. *Toxicol Sci* 2008; 103: 4-13 [PMID: 17890765 DOI: 10.1093/toxsci/kfm246]

6 Briese J, Cheng S, Ezzat S, Liu W, Winer D, Wagener C, Bamberger AM, Asa SL. Osteopontin (OPN) expression in thyroid carcinoma. *Anticancer Res* 2010; 30: 1681-1688 [PMID: 20592361 DOI: 10.1007/s11605-009-0955-y]

7 Imano M, Satou T, Itoh T, Sakai K, Ishimaru E, Yasuda A, Peng YF, Shinkai M, Akai F, Yasuda T, Imamoto H, Okuno K, Ito H, Shiozaki H, Ohyanagi H. Immunohistochemical expression of osteopontin in gastric cancer. *J Gastrointest Surg* 2009; 13: 1577-1582 [PMID: 19582521]

8 Caruso DJ, Carmack AJ, Lokeshwar VB, Duncan RC, Soloway MS, Lokeshwar BL. Osteopontin and interleukin-8 expression is independently associated with prostate cancer recurrence. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 4111-4118 [PMID: 18593988 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-0738]

9 Zhao B, Sun T, Meng F, Qu A, Li C, Shen H, Jin Y, Li W. Osteopontin as a potential biomarker of proliferation and invasiveness for lung cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011; 137: 1061-1070 [PMID: 21207061 DOI: 10.1007/s00432-010-0968-7]

10 Coppola D, Szabo M, Boulware D, Muraca P, Alsarraj M, Chambers AF, Yeatman TJ. Correlation of osteopontin protein expression and pathological stage across a wide variety of tumor histologies. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 184-190 [PMID: 14734468 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-1405-2]

11 Wu CY, Wu MS, Chiang EP, Wu CC, Chen YJ, Chen CJ, Chi NH, Chen GH, Lin JT. Elevated plasma osteopontin associated with gastric cancer development, invasion and survival. *Gut* 2007; 56: 782-789 [PMID: 17148500 DOI: 10.1136/gut.2006.109868]

12 Ramankulov A, Lein M, Kristiansen G, Meyer HA, Loening SA, Jung K. Elevated plasma osteopontin as marker for distant metastases and poor survival in patients with renal cell carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2007; 133: 643-652 [PMID: 17479289 DOI: 10.1007/s00432-007-0215-z]

13 Pan HW, Ou YH, Peng SY, Liu SH, Lai PL, Lee PH, Sheu JC, Chen CL, Hsu HC. Overexpression of osteopontin is associated with intrahepatic metastasis, early recurrence, and poorer prognosis of surgically resected hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2003; 98: 119-127 [PMID: 12833464 DOI: 10.1002/cncr.11487]

14 Xie H, Song J, Du R, Liu K, Wang J, Tang H, Bai F, Liang J, Lin T, Liu J, Fan D. Prognostic significance of osteopontin in hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *Dig Liver Dis* 2007; 39: 167-172 [PMID: 17161983 DOI: 10.1016/j.dld.2006.10.015]

15 Wu JC, Sun BS, Ren N, Ye QH, Qin LX. Genomic aberrations in hepatocellular carcinoma related to osteopontin expression detected by array-CGH. *J Cancer Res Clin Oncol* 2010; 136: 595-601 [PMID: 19834740 DOI: 10.1007/s00432-009-0695-0]

16 Ye QH, Qin LX, Forgues M, He P, Kim JW, Peng AC, Simon R, Li Y, Robles AI, Chen Y, Ma ZC, Wu ZQ, Ye SL, Liu YK, Tang ZY, Wang XW. Predicting hepatitis B virus-positive metastatic hepatocellular carcinomas using gene expression profiling and supervised machine learning. *Nat Med* 2003; 9: 416-423 [PMID: 12640447 DOI: 10.1038/nm843]

17 Phillips RJ, Helbig KJ, Van der Hoek KH, Seth D, Beard MR. Osteopontin increases hepatocellular carcinoma cell growth in a CD44 dependant manner. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 3389-3399 [PMID: 22807608 DOI: 10.3748/wjg.v18.i26.3389]

18 He B, Mirza M, Weber GF. An osteopontin splice variant induces anchorage independence in human breast cancer cells. Oncogene 2006; 25: 2192-2202 [PMID: 16288209 DOI: 10.1038/sj.onc.1209248]

19 Takafuji V, Forgues M, Unsworth E, Goldsmith P, Wang XW. An osteopontin fragment is essential for tumor cell invasion in hepatocellular carcinoma. *Oncogene* 2007; 26: 6361-6371 [PMID: 17452979 DOI: 10.1038/sj.onc.1210463]

20 Chae S, Jun HO, Lee EG, Yang SJ, Lee DC, Jung JK, Park KC, Yeom YI, Kim KW. Osteopontin splice variants differentially modulate the migratory activity of hepatocellular carcinoma cell lines. *Int J Oncol* 2009; 35: 1409-1416 [PMID: 19885563]

21 Evan GI, Vousden KH. Proliferation, cell cycle and apoptosis in cancer. *Nature* 2001; 411: 342-348 [PMID: 11357141 DOI: 10.1038/35077213]

22 Weintraub AS, Schnapp LM, Lin X, Taubman MB. Osteopontin deficiency in rat vascular smooth muscle cells is associated with an inability to adhere to collagen and increased apoptosis. *Lab Invest* 2000; 80: 1603-1615 [PMID: 11092521 DOI: 10.1038/labinvest.3780171]

23 Kim HJ, Lee HJ, Jun JI, Oh Y, Choi SG, Kim H, Chung CW, Kim IK, Park IS, Chae HJ, Kim HR, Jung YK. Intracellular cleavage of osteopontin by caspase-8 modulates hypoxia/reoxygenation cell death through p53. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 15326-15331 [PMID: 19706414 DOI: 10.1073/pnas.0903704106]

24 Zhao J, Dong L, Lu B, Wu G, Xu D, Chen J, Li K, Tong X, Dai J, Yao S, Wu M, Guo Y. Down-regulation of osteopontin suppresses growth and metastasis of hepatocellular carcinoma via induction of apoptosis. *Gastroenterology* 2008; 135: 956-968 [PMID: 18555021 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.05.025]

25 Dai J, Peng L, Fan K, Wang H, Wei R, Ji G, Cai J, Lu B, Li B, Zhang D, Kang Y, Tan M, Qian W, Guo Y. Osteopontin induces angiogenesis through activation of PI3K/AKT and ERK1/2 in endothelial cells. *Oncogene* 2009; 28: 3412-3422 [PMID: 19597469 DOI: 10.1038/onc.2009.189]

26 Kou G, Shi J, Chen L, Zhang D, Hou S, Zhao L, Fang C, Zheng L, Zhang X, Liang P, Zhang X, Li B, Guo Y. A bispecific antibody effectively inhibits tumor growth and metastasis by simultaneous blocking vascular endothelial growth factor A and osteopontin. *Cancer Lett* 2010; 299: 130-136 [PMID: 20826049 DOI: 10.1016/j.canlet.2010.08.011]

27 Liu W, Xu G, Ma J, Jia W, Li J, Chen K, Wang W, Hao C, Wang Y, Wang X. Osteopontin as a key mediator for vasculogenic mimicry in hepatocellular carcinoma. *Tohoku J Exp Med* 2011; 224: 29-39 [PMID: 21512310 DOI: 10.1620/tjem.224.29]

28 Gao C, Guo H, Downey L, Marroquin C, Wei J, Kuo PC. Osteopontin-dependent CD44v6 expression and cell adhesion in HepG2 cells. *Carcinogenesis* 2003; 24: 1871-1878 [PMID: 12949055 DOI: 10.1093/carcin/bgg139]

29 张岚, 李海玉, 殷晓璐, 许雁萍, 陈漪, 谢晓莺, 沈月芳, 叶青海, 任正刚. 骨桥蛋白下游信号分子在肝细胞癌中的表达. 中华肝脏病杂志 2011; 19: 48-51

30 Périgny M, Bairati I, Harvey I, Beauchemin M, Harel F, Plante M, Têtu B. Role of immunohistochemical overexpression of matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP-11 in the prognosis of death by ovarian cancer. *Am J Clin Pathol* 2008; 129: 226-231 [PMID: 18208802 DOI: 10.1309/49LA9XCBGWJ8F2KM]

31 Shinozaki Y, Akutsu-Shigeno Y, Nakajima-Kambe T, Inomata S, Nomura N, Nakahara T, Uchiyama H. Inhibition of matrix metalloproteinase-2 activity by siderophores of Pseudomonas species. *Appl Microbiol Biotechnol* 2004; 64: 840-847 [PMID: 14727091 DOI: 10.1007/s00253-003-1521-2]

32 Bjørnland K, Flatmark K, Pettersen S, Aaasen AO, Fodstad O, Maelandsmo GM. Matrix metalloproteinases participate in osteosarcoma invasion. *J Surg Res* 2005; 127: 151-156 [PMID: 16083752 DOI: 10.1016/j.jss.2004.12.016]

33 Chen RX, Xia YH, Xue TC, Ye SL. Osteopontin promotes hepatocellular carcinoma invasion by up-regulating MMP-2 and uPA expression. *Mol Biol Rep* 2011; 38: 3671-3677 [PMID: 21104439 DOI: 10.1007/s11033-010-0481-8]

34 Sun BS, Dong QZ, Ye QH, Sun HJ, Jia HL, Zhu XQ, Liu DY, Chen J, Xue Q, Zhou HJ, Ren N, Qin LX. Lentiviral-mediated miRNA against osteopontin suppresses tumor growth and metastasis of human hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2008; 48: 1834-1842 [PMID: 18972404 DOI: 10.1002/hep.22531]

35 Xue YH, Zhang XF, Dong QZ, Sun J, Dai C, Zhou HJ, Ren N, Jia HL, Ye QH, Qin LX. Thrombin is a therapeutic target for metastatic osteopontin-positive hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2010; 52: 2012-2022 [PMID: 20890897 DOI: 10.1002/hep.23942]

36 Yang GH, Fan J, Xu Y, Qiu SJ, Yang XR, Shi GM, Wu B, Dai Z, Liu YK, Tang ZY, Zhou J. Osteopontin combined with CD44, a novel prognostic biomarker for patients with hepatocellular carcinoma undergoing curative resection. *Oncologist* 2008; 13: 1155-1165 [PMID: 18997126 DOI: 10.1634/theoncologist.2008-0081]

37 Shang S, Plymoth A, Ge S, Feng Z, Rosen HR, Sangrajrang S, Hainaut P, Marrero JA, Beretta L. Identification of osteopontin as a novel marker for early hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2012; 55: 483-490 [PMID: 21953299 DOI: 10.1002/hep.24703]

38 刘兵团, 张国新, 郝波, 林艳, 黄祖瑚. 骨桥蛋白在肝癌患者外周血和癌组织中的含量及其临床意义. 江苏医药 2007; 33: 1081-1083

39 Zhang H, Ye QH, Ren N, Zhao L, Wang YF, Wu X, Sun HC, Wang L, Zhang BH, Liu YK, Tang ZY, Qin LX. The prognostic significance of preoperative plasma levels of osteopontin in patients with hepatocellular carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2006; 132: 709-717 [PMID: 16786357 DOI: 10.1007/s00432-006-0119-3]

40 Sun J, Xu HM, Zhou HJ, Dong QZ, Zhao Y, Fu LY, Hei ZY, Ye QH, Ren N, Jia HL, Qin LX. The prognostic significance of preoperative plasma levels of osteopontin in patients with TNM stage-I of hepatocellular carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2010; 136: 1-7 [PMID: 19593583]

41 张辉, 应敏刚, 任宁, 叶青海, 汤钊猷, 钦伦秀. 肝细胞癌患者血浆骨桥蛋白表达水平与术后复发及预后的关系. 中国临床医学 2007; 14: 1-6

42 Hua Z, Chen J, Sun B, Zhao G, Zhang Y, Fong Y, Jia Z, Yao L. Specific expression of osteopontin and S100A6 in hepatocellular carcinoma. *Surgery* 2011; 149: 783-791 [PMID: 21310450 DOI: 10.1016/j.surg.2010.12.007]

43 Lee YC, Pan HW, Peng SY, Lai PL, Kuo WS, Ou YH, Hsu HC. Overexpression of tumour-associated trypsin inhibitor (TATI) enhances tumour growth and is associated with portal vein invasion, early recurrence and a stage-independent prognostic factor of hepatocellular carcinoma. *Eur J Cancer* 2007; 43: 736-744 [PMID: 17267202 DOI: 10.1016/j.ejca.2006.11.020]

44 Huang H, Zhang XF, Zhou HJ, Xue YH, Dong QZ, Ye QH, Qin LX. Expression and prognostic significance of osteopontin and caspase-3 in hepatocellular carcinoma patients after curative resection. *Cancer Sci* 2010; 101: 1314-1319 [PMID: 20345480 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2010.01524.x]

45 Yu MC, Lee YS, Lin SE, Wu HY, Chen TC, Lee WC, Chen MF, Tsai CN. Recurrence and poor prognosis following resection of small hepatitis B-related hepatocellular carcinoma lesions are associated with aberrant tumor expression profiles of glypican 3 and osteopontin. *Ann Surg Oncol* 2012; 19 Suppl 3: S455-S463 [PMID: 21822558 DOI: 10.1245/s10434-011-1946-2]

46 Bhattacharya SD, Mi Z, Kim VM, Guo H, Talbot LJ, Kuo PC. Osteopontin regulates epithelial mesenchymal transition-associated growth of hepatocellular cancer in a mouse xenograft model. *Ann Surg* 2012; 255: 319-325 [PMID: 22241292 DOI: 10.1097/SLA.0b013e31823e3a1c]

47 Chen RX, Xia YH, Xue TC, Zhang H, Ye SL. Down-regulation of osteopontin inhibits metastasis of

■同行评价

本文就OPN与HCC转移、复发的研究进展做了较为详细的综述, 为深入研究肝癌复发转移的关系提供了一定参考.

hepatocellular carcinoma cells via a mechanism involving MMP-2 and uPA. *Oncol Rep* 2011; 25: 803-808 [PMID: 21174062]
48 Novina CD, Sharp PA. The RNAi revolution. *Nature* 2004; 430: 161-164 [PMID: 15241403 DOI: 10.1038/430161a]
49 Rand TA, Petersen S, Du F, Wang X. Argonaute2 cleaves the anti-guide strand of siRNA during RISC activation. *Cell* 2005; 123: 621-629 [PMID: 16271385 DOI: 10.1016/j.cell.2005.10.020]
50 林帆, 李瑜元, 夏金堂, 温敏杰, 赖越元, 蔡文松, 伍兆锋, 范少峰. 骨桥蛋白基因沉默对肝癌侵袭转移的抑制作用. 中华肝脏病杂志 2009; 17: 422-425
51 Chen RX, Xia YH, Xue TC, Ye SL. Transcription factor c-Myb promotes the invasion of hepatocellular carcinoma cells via increasing osteopontin expression. *J Exp Clin Cancer Res* 2010; 29: 172 [PMID: 21190594 DOI: 10.1186/1756-9966-29-172]
52 Sieghart W, Wang X, Schmid K, Pinter M, König F, Bodingbauer M, Wrba F, Rasoul-Rockenschaub S, Peck-Radosavljevic M. Osteopontin expression predicts overall survival after liver transplantation for hepatocellular carcinoma in patients beyond the Milan criteria. *J Hepatol* 2011; 54: 89-97 [PMID: 20970216 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.06.030]
53 Kim SH, Chung YH, Yang SH, Kim JA, Jang MK, Kim SE, Lee D, Lee SH, Lee D, Kim KM, Lim YS, Lee HC, Lee YS, Suh DJ. Prognostic value of serum osteopontin in hepatocellular carcinoma patients treated with transarterial chemoembolization. *Korean J Hepatol* 2009; 15: 320-330 [PMID: 19783881 DOI: 10.3350/kjhep.2009.15.3.320]

编辑 田滢 电编 闫晋利

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版)

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

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

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2013年6月8日; 21(16): 1505-1510
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

幽门螺杆菌*CagA*基因与消化系疾病关系的研究进展

游海梅, 胡团敏

游海梅, 南昌大学医学院 江西省南昌市 330000
胡团敏, 中国人民解放军第180医院消化内科 福建省泉州市 362000
游海梅, 在读硕士, 主要从事幽门螺杆菌与消化系疾病关系的研究.
作者贡献分布: 胡团敏与游海梅共同完成论文的选题; 游海梅完成文献的检索和论文撰写; 胡团敏负责论文的审核和修改.
通讯作者: 胡团敏, 教授, 主任医师, 362000, 福建省泉州市清源山下, 中国人民解放军第180医院消化内科.
yihu180@yahoo.com.cn
电话: 0595-28919151
收稿日期: 2013-03-25 修回日期: 2013-04-18
接受日期: 2013-04-27 在线出版日期: 2013-06-08

Advances in understanding the relationship between the *Helicobacter pylori CagA* gene and diseases of the digestive system

Hai-Mei You, Tuan-Min Hu

Hai-Mei You, Medical College of Nanchang University, Nanchang 330000, Jiangxi Province, China
Tuan-Min Hu, Department of Gastroenterology, the 180th Hospital of Chinese PLA, Quanzhou 362000, Fujian Province, China
Correspondence to: Tuan-Min Hu, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the 180th Hospital of Chinese PLA, Qingyuan Mountain, Quanzhou 362000, Fujian Province, China. yihu180@yahoo.com.cn
Received: 2013-03-25 Revised: 2013-04-18
Accepted: 2013-04-27 Published online: 2013-06-08

Abstract

The relationship between the pathogenicity and virulence genes of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) has become a hot topic in research of digestive system diseases in recent years. Studies have shown that *H. pylori* is closely associated with the development of reflux esophagitis, functional dyspepsia, chronic gastritis, peptic ulcer, gastric mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma, gastric cancer and liver diseases. The *H. pylori CagA* gene plays an important role in the development of these diseases. This paper reviews recent progress in understanding the relationship between the *CagA* gene and digestive system diseases.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: *Helicobacter pylori*; *CagA*; Digestive system diseases

You HM, Hu TM. Advances in understanding the relationship between the *Helicobacter pylori CagA* gene and diseases of the digestive system. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(16): 1505-1510 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1505.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1505

摘要

有关幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)毒力基因致病性的探讨, 近些年来是消化系疾病研究的热点之一. 大量研究表明*H. pylori*与反流性食管炎、功能性消化不良、慢性胃炎、消化性溃疡、胃黏膜相关淋巴组织淋巴瘤、胃癌及肝病的关系密切, 而值得关注的是*H. pylori CagA*基因在这些疾病发生发展中的作用更为重要. 本文综述了*CagA*与上述疾病相关性的研究进展.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 幽门螺杆菌; *CagA*; 消化系疾病

核心提示: 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*)*CagA*与消化系疾病密切相关, 其致病因素可能是通过刺激上皮细胞产生炎症因子、引起黏膜免疫损伤、干扰细胞内信号转导通路、上调核因子-κB(nuclear factor κB)、破坏蛋白P53的抑癌基因通路以及破坏细胞的增殖与凋亡等.

游海梅, 胡团敏. 幽门螺杆菌*CagA*基因与消化系疾病关系的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(16): 1505-1510 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1505.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1505

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是一种螺旋状、微需氧革兰阴性杆菌, 主要定植于人胃黏膜, 具有人群的易感性及较强的致病性. 随着研究深入发现具有*CagA*、*VacA*基因的*H. pylori*致病力更强, 因而将*H. pylori*分成2型, *CagA*及*VacA*基因其中一项或两项同时阳性的为Ⅰ型,

■背景资料
幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)与消化系疾病如反流性食管炎、功能性消化不良、慢性胃炎、消化性溃疡、胃黏膜相关淋巴组织(mucosal-associated lymphoid tissue)淋巴瘤以及胃癌的发生发展密切相关, 随着对*H. pylori*研究的深入, 发现*H. pylori*基因型中以*CagA*基因的致病力更强, 大量研究表明*H. pylori CagA*与消化系疾病密切相关. 故本文就*H. pylori CagA*与消化系疾病关系的研究进展作一综述.

■同行评议者
冯志杰, 主任医师, 河北医科大学第二医院消化内科

■研发前沿
*H. pylori*基因致病性与消化系及其他系统疾病的相关性研究是目前探讨的热点, 尤其是*CagA*基因的致病性更令人关注, *CagA*的致病力更强, 更易诱发上述疾病.

否则为Ⅱ型, 而Ⅰ型中的*CagA*基因致病力更令人关注, 大量研究表明*CagA*基因与多种疾病的发生密切相关. 本文就*CagA*基因与部分消化性疾病的相关性研究进展作一综述.

1 反流性食管炎

被人们认知的反流性食管炎(reflux esophagitis, RE)的发病机制为食管抗反流防御机制减弱和反流物对食管黏膜攻击作用的结果, 然而作为消化系攻击因子的*H. pylori*是否与RE有关, 目前仍然是探讨的热点. 根据Pereira-Lima等[1]研究表明*H. pylori CagA*在RE和不伴有食管炎的其他疾病中的阳性率无明显差别; 轻度食管炎症者中*H. pylori*及*CagA*阳性率明显高于中重度食管炎症者; Warburton-Timms等[2]研究表明*H. pylori CagA*阳性可降低重度食管炎症发生的风险. 许树长等[3]分别把52例RE患者和25例慢性胃炎患者作为病例组和对照组, 分别取食管下黏膜及胃窦下黏膜3块进行*H. pylori*及其基因型的检测, 结果表明病例组与对照组食管黏膜*H. pylori*阳性率无明显差异, 而胃窦黏膜*H. pylori*阳性率及*CagA*阳性率明显低于对照组. 不同程度的食管炎中食管黏膜*H. pylori*阳性率无明显差别, 但*CagA*阳性菌株多见于程度轻的食管炎; Somi等[4]研究表明*H. pylori CagA*阳性对RE起保护作用. Miernyk等[5]研究表明*CagA*可降低RE发生的风险, 但亦有研究不支持*H. pylori*对RE起保护作用的观点. Fujiwara等[6]研究表明无论有无*CagA*基因表达, *H. pylori*对酸或混合性反流引起的急性食管炎无影响. Grande等[7]研究表明*H. pylori*感染与RE的发生无明显关系. 刘继友等[8]研究表明*H. pylori*感染可促进RE的发生, 可加重食管黏膜损害, 但近些年来国内外更多的研究表明*H. pylori*感染特别是*H. pylori CagA*阳性对RE的发生起保护作用, 考虑为*CagA*具有高毒素活性, 导致胃泌素分泌增多, 进而增加食管下括约肌收缩的强度和频率, 又可促进胃黏膜萎缩导致胃酸产生减少从而减少胃酸对食管黏膜的刺激作用, 进而可减轻食管炎症, 对RE的发生起到潜在的保护作用.

2 功能性消化不良

根据Keohane等[9]认为*H. pylori*可能参与功能性消化不良(fuctional dyspepsia, FD)的发病, 持续的*H. pylori*感染可能导致胃动力和病理生理学的改变; Hall等[10]研究表明*H. pylori*感染可导致胃黏膜肥大细胞(mast cells, MC)的增多, 促进中性粒细胞浸润, MC还可改变脑-肠轴信号参与FD的发生; 另有研究表明*H. pylori*可导致胃黏膜感觉神经肽升高, 使患者对胃容受扩张的感觉阈值降低[11]. 根据牟春笋等[12]对480例患有FD的儿童及423例无症状健康儿童进行研究发现*H. pylori CagA*阳性与儿童FD的发病显著相关, 而不带*CagA*的*H. pylori*菌株感染与儿童FD无明显相关性; Arévalo-Galvis等[13]对79例*H. pylori*阳性的FD患者进行研究发现*CagA*表达的百分率达71%, 在FD中最具毒力的致病基因为多基因组合(*CagA*+/*VacAs1am1*/*babA2*+/*iceA1*); Vilaichone等[14]研究表明在*H. pylori*感染FD患者中*CagA*阳性表达率较高, 且*CagA 1a*基因与餐后窘迫综合征(postprandial distress syndrome, PDF)相关, *CagA 2a*基因与上腹部疼痛综合征(epigastric pain syndrome, EPS)相关. *CagA*可能通过释放各种炎性因子, 加重胃黏膜炎症, 从而导致胃感觉和运动异常. 目前对*CagA*致FD的机制有待深入研究.

3 慢性胃炎

*H. pylori*是慢性胃炎(chronic gatritis, CG)的主要致病菌已被人们认可, 其与胃黏膜上皮细胞的特异性受体结合, 其本身所具有的胞周血细胞凝集素可促进其黏附, *H. pylori*可分泌一种中性粒细胞和单核细胞趋化因子[15], 又可导致胃黏膜$CD4^+$ T淋巴细胞浸润, 导致TH1、TH2型免疫应答, 刺激上皮细胞产生白介素(interleukin, IL)-2、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)、IL-4、IL-12、IL-6、IL-8、干扰素-γ、IL-10等炎症因子, 当炎症因子失衡可导致胃黏膜炎症[16], Kido等[17]研究表明*CagA*阳性大鼠胃黏膜$CD4^+$ T淋巴细胞浸润较*CagA*阴性大鼠胃黏膜多, 而且胃黏膜炎症较重. Takamura等[18]对日本和巴西*H. pylori*感染的患者胃黏膜炎症进行研究, 发现感染东亚*CagA*基因型的*H. pylori*促进胃黏膜炎症的进展. 朱宝等[19]对52例慢性胃炎者和50例健康者进行胃黏膜组织*CagA*表达及培养液中IL-6、IL-8、CRP水平进行研究, 表明慢性胃炎组*H. pylori CagA*阳性表达显著高于对照组, 同时IL-8亦高于对照组, IL-6、CRP无明显差异. 张亚南等[20]研究表明*H. pylori CagA*是诱导IL-8 mRNA表达的重要因子. 根据Zalewska-Ziob等[21]研究表明*CagA*/*VacA*可致TNF-α升高; *H. pylori CagA*还可促进胃黏膜产生诱导型一氧

化氮合酶(induced nitric oxide synthetase, iNOS), 进而产生NO参与胃黏膜组织的病理损伤[22].

李庭赞等[23]研究表明慢性萎缩性胃炎(chronic atropic gastritis, CAG)以*H. pylori CagA*阳性感染为主; 孟祥军等[24]研究表明*CagA*的表达同CAG的严重程度密切相关, 高阳性率患者的胃黏膜炎症活动度较重; 另有研究表明, *CagA*能增强胃黏膜的炎性反应并促进胃黏膜萎缩及肠化[25]. Schnelle等[26]研究表明*CagA*阳性*H. pylori*感染者胃窦黏膜发生肠化生的概率增高. Chuang等[27]研究表明*H. pylori CagA*磷酸化可能导致肠上皮化生及胃癌发生的风险. 陆一峰等[28]研究表明根治*H. pylori*后可使胃黏膜萎缩和肠上皮化生程度减轻. *H. pylori CagA*可直接损伤胃黏膜上皮细胞, 引起胃黏膜炎症加重, 胃黏膜腺体不断遭受到变性、损伤、破坏并逐渐丢失, 病变的范围、程度逐渐加重导致黏膜腺体萎缩. Hutton等[29]研究表明*CagA*可上调核因子-κB(nuclear factor κB, NF-κB), NF-κB可促进IL-8、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)等炎性因子的分泌, 长期处于慢性炎症中的胃黏膜可发生萎缩及肠上皮化生. 此外NF-κB可抑制壁细胞分泌胃酸, 使胃液pH值及胃泌素分泌增多, 促进CAG的发生发展[30].

4 消化性溃疡

目前临床上主要将消化性溃疡(peptic ulcer, PU)分为“*H. pylori*相关性溃疡”和“非*H. pylori*相关性溃疡”. 被人们公认的是*H. pylori*可使胃泌素和生长抑素的分泌紊乱, 亦会直接破坏上皮细胞释放炎症介质, 引发胃黏膜局部炎性反应, 使胃酸分泌过多, 破坏正常的胃黏膜屏障, 诱发溃疡. 张静等[31]研究表明胃溃疡患者*H. pylori CagA*阳性率明显高于胃炎患者. Salehi等[32]研究表明在十二指肠溃疡患者中*CagA*阳性率比慢性胃炎患者高. Tuncel等[33]研究亦表明PU患者*CagA*阳性率明显高于慢性胃炎患者. *CagA*致PU的机制为: (1)漏屋顶学说: 把有炎症的黏膜比喻成漏雨的屋顶, 而*CagA*可使胃黏膜炎症加重; (2)介质冲洗学说: *CagA*可致炎症因子释放增多, 如IL-8、TNF-α及IL-8 mRNA的表达增高, 促进中性粒细胞的聚集及浸润[19-21]; Jafarzadeh等[34]研究表明*CagA*抗体阳性的十二指肠球部溃疡中IL-17明显增高; (3)胃泌素-胃酸学说: 根据汪苏等[35]研究表明CagA蛋白可上调胃泌素基因的表达, 胃泌素分泌增加, 从而促进胃酸的分泌; (4)免疫损伤学说: *CagA*可致胃黏膜$CD4^+$ T细胞浸润, 导致免疫损伤[17].

5 胃淋巴组织样淋巴瘤

胃淋巴组织样淋巴瘤(mucosa associated lymphoid tissue, MAIL), 淋巴瘤为结外边缘B细胞淋巴瘤的常见类型, 他属于低度恶性, 但可转化为高度恶性的弥漫性大B细胞淋巴瘤. 其发生与*H. pylori*感染密切相关, 尤其是*CagA*阳性的*H. pylori*感染; Delchier等[36]在对53例胃MALT淋巴瘤患者研究时发现*H. pylori*感染率为85%, 血清*CagA*抗体阳性率为56.5%, 高度恶性MALT淋巴瘤患者中*H. pylori*感染率为100%, *CagA*抗体阳性率为75%. *CagA*可通过多种途径参与MALT淋巴瘤的发生发展: (1)*CagA*可直接进入胃黏膜上皮细胞, 干扰细胞信号转导通路[37]; (2)能诱导Bad磷酸化从而增强淋巴细胞逃避凋亡的能力, 促进淋巴瘤的生成[38]; (3)可通过释放炎症因子, 直接作用于上皮细胞; 研究表明IL-10(-819C/T)和TNF-α(-308G/A)位点是*H. pylori*相关性胃MALT淋巴瘤的危险因素[39]; (4)上调COX-2的表达和下调Bax/Bcl-2[40], 从而阻止细胞凋亡; (5)上调NF-κB促进炎症因子IL-6的释放, 诱导MiR-21的表达上调, 从而抑制PTEN的表达, 激活Akt信号通路等发挥其癌基因的功能[41,42].

6 胃癌

胃癌(gastric cancer, GC)是消化系常见的恶性肿瘤, 有研究表明胃癌的发生与*H. pylori*感染有关, 世界卫生组织已将*H. pylori*感染列入Ⅰ类致癌因子. 徐兴福等[43]对10篇有关中国居民*CagA*阳性*H. pylori*感染与胃癌关系的文献进行Meta分析得出*CagA*阳性*H. pylori*感染与胃癌之间有高度联系. *H. pylori CagA*致胃癌的可能机制为: (1)*CagA*可激活Cox-2以及抑制热休克蛋白70(HSP70)[44], 促进胃黏膜上皮细胞的凋亡; (2)*CagA*可上调NF-κB: NF-κB是一种多向转录调节因子, 可参与多种肿瘤的发生, 有文献报道*CagA*可上调NF-κB, 促进胃癌前病变慢性萎缩性胃炎及肠上皮化生的发生发展[29]; (3)上调miR-21[45,46]: 研究表明92%的胃癌组织中miR-21表达增加, miR-21可下调抑癌基因, 使细胞周期缩短, 促进细胞凋亡; (4)限制极性调节激酶PAR1/MARK并抑制其活性, *CagA*亦获得对致癌性酪氨酸磷酸酶SHP2的影响, 并解除对其活性

■创新盘点

*H. pylori*在慢性胃炎、消化性溃疡、胃癌以及胃MALT淋巴瘤等消化系疾病发生发展中的作用已经得到公认, 但关于*H. pylori CagA*基因与消化系疾病的关系目前尚未见系统的综述, 本文的创新点在于系统的综述了*H. pylori CagA*基因与消化系疾病关系的研究进展.

■应用要点

随着人们对*H. pylori*在消化系疾病发病中的作用的认识，有关抗*H. pylori*治疗已成为部分消化系疾病的必要治疗手段，明确*H. pylori CagA*基因与消化系疾病的关系，有待于有效地寻求*H. pylori*基因治疗方法.

的管制，*CagA*通过解除对细胞内信号传导途径的管制而参与胃癌的发生[47]；(5)破坏细胞凋亡刺激蛋白P53的抑癌基因通路[48].

7 肝病

有研究表明[49]在肝脏、胆管和胆汁中发现*H. pylori*，其可能通过微生物的方式在肝胆管疾病的发病机制中起作用；李东复等[50]研究结果提示*CagA*和*VacA*阳性的*H. pylori*感染的肝硬化患者胃黏膜组织和外周血中IL-1、IL-8、TNF-α、内毒素、NO及内皮素(endothelin, ET)的水平明显高于*CagA*和*VacA*阴性的*H. pylori*感染的肝硬化患者；上述因素又可刺激ET的产生，ET可与存在于Diss间隙的贮脂细胞上的内皮素受体结合，使贮脂细胞细胞收缩，肝窦阻力增加，门静脉高压，导致门脉血流减少. 此研究表明*CagA*和*VacA*阳性在肝硬化高动力循环及门脉高压性胃黏膜病变中起重要作用；郑盛等[51]研究表明肝癌患者中*H. pylori CagA*-IgG抗体明显高于健康体检者. 根据田莉等[52]研究表明*H. pylori CagA*阳性率在病原学分类中，乙型肝炎患者、甲型肝炎患者、非甲非乙型肝炎患者之间无明显差异，而与无肝炎病毒感染者比较则有显著差异. 在肝脏疾病发展的不同时期*H. pylori*血清*CagA*抗体阳性率分布不同，肝硬化最高，其次分别为慢性肝炎、重型肝炎、急性肝炎，前3组均与急性肝炎存在差异. Esmat等[53]研究表明*CagA*与丙型肝炎相关的慢性肝炎及伴或不伴肝癌的肝硬化的进展有关，且在晚期肝硬化患者中*CagA*阳性率明显高于早期肝硬化患者；根据Boonyanugomol等[54]报道*CagA*与肝胆管细胞癌(cholangiocarcinoma, CCA)和胆石症相关，但在CCA中出现的概率明显高于胆石症($P<0.05$)，差异有显著意义，*CagA*与肝胆疾病密切相关，特别是CCA，考虑为*CagA*通过破坏细胞的增殖、凋亡以及促进炎症反应在CCA的发生中起重要作用.

8 结论

*H. pylori CagA*通过多种途径在消化系疾病的发生发展中起着重要作用，虽然其致病机制尚未完全明确，但随着研究的进展正在不断深入了解，从而为消化性疾病的防治提供理论依据及新的途径.

9 参考文献

1 Pereira-Lima JC, Marques DL, Pereira-Lima LF, Hornos AP, Rota C. The role of cagA Helicobacter pylori strains in gastro-oesophageal reflux disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2004; 16: 643-647 [PMID: 15201576 DOI: 10.1097/01.meg.0000108340.41221.9e]

2 Warburton-Timms VJ, Charlett A, Valori RM, Uff JS, Shepherd NA, Barr H, McNulty CA. The significance of cagA(+) Helicobacter pylori in reflux oesophagitis. *Gut* 2001; 49: 341-346 [PMID: 11511554 DOI: 10.1136/qut.49.3.341]

3 许树长, 张志强, 陈锡美, 叶元康, 王炳芳, 张东伟. 反流性食管炎患者的幽门螺杆菌感染. 同济大学学报 2005; 26: 45-48

4 Somi MH, Fattahi E, Fouladi RF, Karimi M, Bonyadi R, Baballou Z. An inverse relation between CagA+ strains of Helicobacter pylori infection and risk of erosive GERD. *Saudi Med J* 2008; 29: 393-396 [PMID: 18327366]

5 Miernyk K, Morris J, Bruden D, McMahon B, Hurlburt D, Sacco F, Parkinson A, Hennessy T, Bruce M. Characterization of Helicobacter pylori cagA and vacA genotypes among Alaskans and their correlation with clinical disease. *J Clin Microbiol* 2011; 49: 3114-3121 [PMID: 21752979 DOI: 10.1128/JCM.00469-11]

6 Fujiwara Y, Higuchi K, Tominaga K, Matsuo T, Watanabe T, Uchida T, Saeki Y, Arakawa T, Tarnawski A. Effect of Helicobacter pylori culture supernatant on acute reflux esophagitis in a rat model. *Hepatogastroenterology* 2001; 48: 1611-1615 [PMID: 11813584]

7 Grande M, Cadeddu F, Villa M, Attinà GM, Muzi MG, Nigro C, Rulli F, Farinon AM. Helicobacter pylori and gastroesophageal reflux disease. *World J Surg Oncol* 2008; 6: 74 [PMID: 18601740]

8 刘继友. 64例反流性食管炎患者幽门螺杆菌检测结果分析. 内科 2012; 7: 366-367

9 Keohane J, Quigley EM. Functional dyspepsia: the role of visceral hypersensitivity in its pathogenesis. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 2672-2676 [PMID: 16718751]

10 Hall W, Buckley M, Crotty P, O'Morain CA. Gastric mucosal mast cells are increased in Helicobacter pylori-negative functional dyspepsia. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2003; 1: 363-369 [PMID: 15017654 DOI: 10.1053/S1542-3565(03)00184-8]

11 Mönnikes H, van der Voort IR, Wollenberg B, Heymann-Monnikes I, Tebbe JJ, Alt W, Arnold R, Klapp BF, Wiedenmann B, McGregor GP. Gastric perception thresholds are low and sensory neuropeptide levels high in helicobacter pylori-positive functional dyspepsia. *Digestion* 2005; 71: 111-123 [PMID: 15785037 DOI: 10.1159/000084625]

12 牟春笋, 刘艳萍, 王进. 儿童功能性消化不良危险因素分析. 临床消化病杂志 2009; 21: 212-214

13 Arévalo-Galvis A, Trespalacios-Rangell AA, Otero W, Mercado-Reyes MM, Poutou-Piñales RA. Prevalence of cagA, vacA, babA2 and iceA genes in H. pylori strains isolated from Colombian patients with functional dyspepsia. *Pol J Microbiol* 2012; 61: 33-40 [PMID: 22708344]

14 Vilaichone RK, Mahacahai V, Tumwasorn S, Kachintorn U. CagA genotype and metronidazole resistant strain of Helicobacter pylori in functional dyspepsia in Thailand. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26 Suppl 3: 46-48 [PMID: 21443709 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06652.x]

15 樊慧丽, 玉梅. 幽门螺杆菌感染及其相关疾病发病机

制的研究进展. 中国全科医学 2011; 14: 577-579
16 石云, 刘晓斐. 幽门螺杆菌与TH细胞应答的研究进展. 细胞与分子免疫学杂志 2010; 26: 407-409
17 Kido M, Watanabe N, Aoki N, Iwamoto S, Nishiura H, Maruoka R, Ikeda A, Azuma T, Chiba T. Dual roles of CagA protein in Helicobacterpylori-induced chronic gastritis in mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 412: 266-272 [PMID: 21820415]
18 Takamura A, Ito M, Imagawa S, Takata S, Tanaka S, Teixeira CR, Kamada T, Haruma K, Chayama K. Helicobacter pylori cagA polymorphism and gastric inflammation: an international comparison between Japanese and Brazilian patients. *Scand J Gastroenterol* 2011; 46: 1051-1056 [PMID: 21736532 DOI: 10.3109/00365521.2011.598549]
19 朱宝, 袁航, 奚惠芳, 王俊超. 幽门螺杆菌感染性胃炎患者胃黏膜组织CagA表达与其培养液中IL-6、IL-8及CRP水平的变化. 中华医院感染性杂志 2011; 21: 236-238
20 张亚南, 黄柳桓, 康熙雄. 幽门螺杆菌毒力蛋白CagA诱导AGS细胞IL-8mRNA表达的研究. 中国实验诊断学 2012; 16: 571-574
21 Zalewska-Ziob M, Adamek B, Strzelczyk JK, Gawron K, Jarzab B, Gubała E, Kula D, Krakowczyk Ł, Sieroń A, Wiczkowski A. TNF-alpha expression in gastric mucosa of individuals infected with different virulent Helicobacter pylori strains. *Med Sci Monit* 2009; 15: BR166-BR171 [PMID: 19478694]
22 原素梅, 郝素珍, 姚红, 崔雪萍, 刘俊. 幽门螺杆菌(Hp)相关性胃炎Hp密度及CagA基因对胃黏膜诱导型NOS表达的影响. 山西医科大学学报 2005; 36: 25-27
23 李庭赞, 陈志潭, 孙丹莉, 孙士其. HP和CagA Hp与中国人慢性萎缩性胃炎、胃腺癌、消化性溃疡的关系. 临床内科学杂志 2001; 18: 28-30
24 孟祥军, 吴建新, 李定国, 陆汉明. 慢性萎缩性胃炎胃黏膜病理改变与细胞毒素相关蛋白及空泡毒素的关系. 临床内科杂志 2003; 20: 414-415
25 Sicinschi LA, Correa P, Peek RM, Camargo MC, Piazuelo MB, Romero-Gallo J, Hobbs SS, Krishna U, Delgado A, Mera R, Bravo LE, Schneider BG. CagA C-terminal variations in Helicobacter pylori strains from Colombian patients with gastric precancerous lesions. *Clin Microbiol Infect* 2010; 16: 369-378 [PMID: 19456839 DOI: 10.1111/j.1469-0691.2009.02811.x]
26 Schneller J, Gupta R, Mustafa J, Villanueva R, Straus EW, Raffaniello RD. Helicobacter pylori infection is associated with a high incidence of intestinal metaplasia in the gastric mucosa of patients at inner-city hospitals in New York. *Dig Dis Sci* 2006; 51: 1801-1809 [PMID: 16944298 DOI: 10.1007/s10620-006-9167-4]
27 Chuang CH, Yang HB, Sheu SM, Hung KH, Wu JJ, Cheng HC, Chang WL, Sheu BS. Helicobacter pylori with stronger intensity of CagA phosphorylation lead to an increased risk of gastric intestinal metaplasia and cancer. *BMC Microbiol* 2011; 11: 121 [PMID: 21619658 DOI: 10.1186/1471-2180-11-121]
28 陆一峰, 宓晓鸣, 许学新. 根治幽门螺杆菌对胃黏膜萎缩及肠上皮化生的影响. 苏州大学学报 2010; 30: 851-852
29 Hutton ML, Kaparakis-Liaskos M, Turner L, Cardona A, Kwok T, Ferrero RL. Helicobacter pylori exploits cholesterol-rich microdomains for induction of NF-kappaB-dependent responses and peptidoglycan delivery in epithelial cells. *Infect Immun* 2010; 78: 4523-4531 [PMID: 20713621 DOI: 10.1128/IAI.00439-10]
30 Saha A, Hammond CE, Trojanowska M, Smolka AJ. Helicobacter pylori-induced H,K-ATPase alpha-subunit gene repression is mediated by NF-kappaB p50 homodimer promoter binding. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008; 294: G795-G807 [PMID: 18202112 DOI: 10.1152/aipgi.00431.2007]
31 张静, 佘菲菲, 陈月秀, 陈豪. 幽门螺杆菌CagA、opiA、iceA1基因的检测及其意义. 中国卫生检验杂志 2004; 14: 133-134
32 Salehi Z, Jelodar MH, Rassa M, Ahaki M, Mollasalehi H, Mashayekhi F. Helicobacter pylori cagA status and peptic ulcer disease in Iran. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 608-613 [PMID: 18612816 DOI: 10.1007/s10620-008]
33 Tuncel IE, Hussein NR, Bolek BK, Arikan S, Salih BA. Helicobacter pylori virulence factors and their role in peptic ulcer diseases in Turkey. *Acta Gastroenterol Belg* 2010; 73: 235-238 [PMID: 20690562]
34 Jafarzadeh A, Mirzaee V, Ahmad-Beygi H, Nemati M, Rezayati MT. Association of the CagA status of Helicobacter pylori and serum levels of interleukin (IL)-17 and IL-23 in duodenal ulcer patients. *J Dig Dis* 2009; 10: 107-112 [PMID: 19426392 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2009.00371.x]
35 汪苏, 周建奖, 单可人, 赵燕, 谢渊. 幽门螺杆菌毒素相关蛋白CagA上调胃泌素基因表达. 中华微生物学及免疫学杂志 2009; 29: 976-980
36 Delchier JC, Lamarque D, Levy M, Tkoub EM, Copie-Bergman C, Deforges L, Chaumette MT, Haioun C. Helicobacter pylori and gastric lymphoma: high seroprevalence of CagA in diffuse large B-cell lymphoma but not in low-grade lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue type. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 2324-2328 [PMID: 11513169 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2001]
37 Lin WC, Tsai HF, Kuo SH, Wu MS, Lin CW, Hsu PI, Cheng AL, Hsu PN. Translocation of Helicobacter pylori CagA into Human B lymphocytes, the origin of mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. *Cancer Res* 2010; 70: 5740-5748 [PMID: 20587516]
38 Zhu Y, Wang C, Huang J, Ge Z, Dong Q, Zhong X, Su Y, Zheng S. The Helicobacter pylori virulence factor CagA promotes Erk1/2-mediated Bad phosphorylation in lymphocytes: a mechanism of CagA-inhibited lymphocyte apoptosis. *Cell Microbiol* 2007; 9: 952-961 [PMID: 17140404 DOI: 10.1111/j.1462-5822.2006.00843.x]
39 Hellmig S, Bartscht T, Fischbach W, Fölsch UR, Schreiber S. Interleukin-10 (-819 C/T) and TNF-A (-308 G/A) as risk factors for H. pylori-associated gastric MALT-lymphoma. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 2007-2008 [PMID: 18338261 DOI: 10.1007/s10620-008-0231-0]
40 Chen LT, Lin JT, Tai JJ, Chen GH, Yeh HZ, Yang SS, Wang HP, Kuo SH, Sheu BS, Jan CM, Wang WM, Wang TE, Wu CW, Chen CL, Su IJ, Whang-Peng J, Cheng AL. Long-term results of anti-Helicobacter pylori therapy in early-stage gastric high-grade transformed MALT lymphoma. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97: 1345-1353 [PMID: 16174856 DOI: 10.1093/jnci/dji277]
41 Löffler D, Brocke-Heidrich K, Pfeifer G, Stocsits C, Hackermüller J, Kretzschmar AK, Burger R, Gramatzki M, Blumert C, Bauer K, Cvijic H, Ullmann AK, Stadler PF, Horn F. Interleukin-6 dependent survival of multiple myeloma cells involves the Stat3-mediated induction of microRNA-21 through a highly conserved enhancer. *Blood* 2007; 110: 1330-1333 [PMID: 17496199 DOI: 10.1182/

■同行评价
本文较系统、全面的阐述了*H. pylori CagA*基因型与多种消化系疾病的关系, 具有一定的临床价值.

Blood-2007-03-081133]
42 Marquez RT, Wendlandt E, Galle CS, Keck K, McCaffrey AP. MicroRNA-21 is upregulated during the proliferative phase of liver regeneration, targets Pellino-1, and inhibits NF-kappaB signaling. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010; 298: G535-G541 [PMID: 20167875 DOI: 10.1152/ajpgi.00338.2009]
43 徐兴福, 毕建萍. 中国居民CagA Hp感染与胃癌关系的Meta分析. 中国热带医学 2006; 6: 2122-2123
44 Targosz A, Brzozowski T, Pierzchalski P, Szczyrk U, Ptak-Belowska A, Konturek SJ, Pawlik W. Helicobacter pylori promotes apoptosis, activates cyclooxygenase (COX)-2 and inhibits heat shock protein HSP70 in gastric cancer epithelial cells. *Inflamm Res* 2012; 61: 955-966 [PMID: 22610150 DOI: 10.1007/s00011-012-0487-x]
45 Winter F, Edaye S, Hüttenhofer A, Brunel C. Anopheles gambiae miRNAs as actors of defence reaction against Plasmodium invasion. *Nucleic Acids Res* 2007; 35: 6953-6962 [PMID: 17933784 DOI: 10.1093/nar/gkm686]
46 李立平, 吴炜景, 吴伟洪, 赵亚刚. MiR-21、幽门螺杆菌CagA与胃癌相关性研究进展. 华南国防医学杂志 2012; 26: 389-391
47 Hatakeyama M. [H. pylori oncoprotein CagA and gastric cancer]. *Nihon Rinsho* 2012; 70: 1699-1704 [PMID: 23198548]
48 Buti L, Spooner E, Van der Veen AG, Rappuoli R, Covacci A, Ploegh HL. Helicobacter pylori cytotoxin-associated gene A (CagA) subverts the apoptosis-stimulating protein of p53 (ASPP2) tumor suppressor pathway of the host. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 9238-9243 [PMID: 21562218 DOI: 10.1073/pnas.1106200108]
49 Isaeva GSh, Abuzarova ER, Valeeva IuV, Pozdeev OK, Murav'eva EV. [Helicobacter pylori in patients with disorders of hepatobiliary system]. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol* 2009; (2): 96-101 [PMID: 19459487]
50 李东复, 卢琳琳, 杨贵贞. 幽门螺杆菌感染在肝硬化、肝癌高动力循环及胃黏膜病变中的作用. 中国免疫学杂志 2005; 21: 877-879
51 郑盛, 肖琼怡, 殷芳, 严晓会, 刘海. 幽门螺杆菌与原发性肝癌的相关性研究. 中国临床实用医学 2010; 4: 83-84
52 田莉. 探讨幽门螺杆菌血清CagA抗体与肝病患者的关系. 健康必读杂志 2010; 8: 132
53 Esmat G, El-Bendary M, Zakarya S, Ela MA, Zalata K. Role of Helicobacter pylori in patients with HCV-related chronic hepatitis and cirrhosis with or without hepatocellular carcinoma: possible association with disease progression. *J Viral Hepat* 2012; 19: 473-479 [PMID: 22676359 DOI: 10.1111/j.1365-2893.2011.01567.x]
54 Boonyanugomol W, Chomvarin C, Sripa B, Chau-In S, Pugkhem A, Namwat W, Wongboot W, Khampoosa B. Molecular analysis of Helicobacter pylori virulent-associated genes in hepatobiliary patients. *HPB* (Oxford) 2012; 14: 754-763 [PMID: 23043664]

编辑 田滢 电编 闫晋利

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

• 消息 •

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

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2013年6月8日; 21(16): 1511-1515
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

孤束核、脊髓损毁后艾灸预处理对急性胃黏膜损伤大鼠PGE_2与EGF含量的影响

杨 舟, 张国山, 刘 密, 章海凤, 雷毅军, 常小荣, 郁保生

杨舟, 刘密, 常小荣, 湖南中医药大学针灸推拿学院 湖南省长沙市 410007
张国山, 章海凤, 雷毅军, 湖南中医药大学 湖南省长沙市 410007
郁保生, 湖南中医药大学中医学院 湖南省长沙市 410007
国家重点基础研究973计划基金资助项目, No. 2009CB522904
国家自然科学基金资助项目, No. 81173326
高等学校博士学科点专项科研基金资助项目, No. 20124323110001
作者贡献分布: 此课题由常小荣、郁保生及杨舟共同设计; 动物模型制作、施灸及样本采集由杨舟、张国山及刘密操作完成; 检测分析由章海凤完成; 数据统筹及统计学分析由杨舟与雷毅军完成; 论文写作由杨舟与张国山完成.
通讯作者: 郁保生, 教授, 410007, 湖南省长沙市韶山中路113号, 湖南中医药大学中医学院. ybs1955@126.com
收稿日期: 2013-01-07 修回日期: 2013-03-20
接受日期: 2013-05-15 在线出版日期: 2013-06-08

■背景资料
艾灸可通过多途径、多因素、多水平诱导机体产生内源性保护物质, 启动一系列抗炎、抗氧化、抑制凋亡等抗损伤和胃黏膜细胞增殖及胃黏膜重建等保护效应. 但艾灸实现对内源性保护物质调控的信息传递通路及其与中枢神经系统的关系尚不明确.

Effect of moxibustion pretreatment on the contents of PGE_2 and EGF in gastric mucosal injury in rats after nucleus of the solitary tract or spinal cord damage

Zhou Yang, Guo-Shan Zhang, Mi Liu, Hai-Feng Zhang, Yi-Jun Lei, Xiao-Rong Chang, Bao-Sheng Yu

Zhou Yang, Mi Liu, Xiao-Rong Chang, College of Acupuncture, Moxibustion and Tuina, Hunan University of TCM, Changsha 410007, Hunan Province, China
Guo-Shan Zhang, Hai-Feng Zhang, Yi-Jun Lei, Hunan University of TCM, Changsha 410007, Hunan Province, China
Bao-Sheng Yu, College of Traditional Chinese Medicine, Hunan University of TCM, Changsha 410007, Hunan Province, China
Supported by: the National Basic Research Program of China (973 Program), No. 2009CB522904; the National Natural Science Foundation of China, No. 81173326; and the Specialized Research Fund for the Doctoral Program of Higher Education, No. 20124323110001
Correspondence to: Bao-Sheng Yu, Professor, College of Traditional Chinese Medicine, Hunan University of TCM, 113 Shaoshan Middle Road, Changsha 410007, Hunan Province, China. ybs1955@126.com
Received: 2013-01-07 Revised: 2013-03-20
Accepted: 2013-05-15 Published online: 2013-06-08

Abstract

AIM: To observe the effect of moxibustion pretreatment on the contents of prostaglandin E_2 (PGE_2) and epidermal growth factor (EGF) in acute gastric mucosal injury in rats after nucleus of the solitary tract (NTS) or spinal cord damage, and to discuss the relationship between the central nervous system and endogenous protective effect of moxibustion.

METHODS: Fifty SD rats were randomly divided into five groups: a blank group, a model group, a moxibustion group, a NTS damage group, and a spinal cord damage group. After spinal cord damage and NTS damage were induced in groups D and E, respectively, moxibustion at Zusanli point (ST36) was applied in groups C, D and E. After that, the rats were intragastrically given absolute ethanol to induce acute gastric mucosal injury. The contents of PGE_2 and EGF in the gastric mucosa were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

RESULTS: Moxibustion pretreatment increased the contents of PGE_2 and EGF in the gastric mucosa (338.82 μg/L ± 19.87 μg/L *vs* 279.52 μg/L ± 16.53 μg/L, $P < 0.01$; 4037.12 μg/L ± 300.20 μg/L *vs* 2923.73 μg/L ± 251.23 μg/L, $P < 0.05$). NTS or spinal cord damage reduced the contents of PGE_2 and EGF compared to the moxibustion group, in which the NTS and spinal cord were normal (298.65 μg/L ± 12.89 μg/L, 317.56 μg/L ± 16.60 μg/L *vs* 338.82 μg/L ± 19.87 μg/L; 3176.21 μg/L ± 242.35 μg/L, 3337.43 μg/L ± 249.86 μg/L *vs* 4037.12 μg/L ± 300.20 μg/L, all $P < 0.01$). The content of PGE_2 in the NTS damage group was lower than that in the spinal cord damage group ($P < 0.05$).

CONCLUSION: NTS or spinal cord damage reduces the protective effect of moxibustion pretreatment at Zusanli point (ST36) on the gastric mucosa, suggesting that both the NTS and spinal cord are involved in the protective effect of moxibustion on the gastric mucosa.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Moxibustion pretreatment; Gastric mu-

■同行评议者
王富春, 教授, 长春中医药大学

■研发前沿
大量研究证实, 胃黏膜的内源性保护因子具有扩张血管, 改善胃黏膜供血, 保护、提高血管内皮细胞和胃上皮细胞功能等作用, 尤其是在致损伤因子存在的情况下, 发挥着重要的胃黏膜保护作用, 如前列腺素$_2$(prostaglandin E_2, PGE_2)、表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)等.

cosa injury; Zusanli point (ST36); Nucleus of the solitary tract; Spinal cord; Prostaglandin E2; Epidermal growth factor

Yang Z, Zhang GS, Liu M, Zhang HF, Lei YJ, Chang XR, Yu BS. Effect of moxibustion pretreatment on the contents of PGE_2 and EGF in gastric mucosal injury in rats after nucleus of the solitary tract or spinal cord damage. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(16): 1511-1515 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1511.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1511

摘要

目的: 损毁大鼠中枢神经通路中的孤束核和脊髓, 观察艾灸预处理对胃黏膜内源性保护物质前列腺素E_2(prostaglandin E_2, PGE_2)和表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)含量的影响, 进而探讨艾灸启动内源性保护信息与中枢神经通路的关系.

方法: 50只SD大鼠随机分5组, 即A: 空白对照组; B: 模型对照组; C: 温和灸+模型组; D: 温和灸+模型组+孤束核损毁组; E: 温和灸+模型组+脊髓损毁组. 预先按要求对D、E组大鼠分别实施孤束核、脊髓的损毁手术, 再对相应组别进行艾灸处理, 最后用无水酒精灌胃造成急性胃黏膜损伤模型. 运用酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)法检测胃黏膜组织中PGE_2和EGF的含量.

结果: 艾灸预处理有上调胃黏膜中PGE_2、EGF含量的作用(338.82 μg/L±19.87 μg/L *vs* 279.52 μg/L±16.53 μg/L, $P<0.01$; 4037.12 μg/L±300.20 μg/L *vs* 2923.73 μg/L±251.23 μg/L, $P<0.05$), 孤束核和脊髓被损毁的2组大鼠胃黏膜PGE_2和EGF的含量明显低于神经通路未损伤的温和灸组(298.65 μg/L±12.89 μg/L, 317.56 μg/L±16.60 μg/L *vs* 338.82 μg/L±19.87 μg/L; 3176.21 μg/L±242.35 μg/L, 3337.43 μg/L±249.86 μg/L *vs* 4037.12 μg/L±300.20 μg/L, 均$P<0.01$), 且孤束核损毁的大鼠胃黏膜中PGE_2的含量较脊髓损毁的低($P<0.05$).

结论: 损毁大鼠中枢神经通路中的孤束核和脊髓对艾灸预处理提高胃黏膜组织中PGE_2、EGF含量有影响, 提示孤束核和脊髓均参与了艾灸保护胃黏膜信号的传导. 其中, 艾灸诱导胃黏膜PGE_2的产生可能主要受控于孤束核, 而其对胃黏膜EGF表达调控则与孤束核和脊髓均有关.

© 2013年版权归Baishideng所有.

■相关报道
电损毁孤束核后, 电针足三里穴对应激性胃黏膜损伤的保护作用减弱, 证实孤束核参与了电针足三里穴抗应激性胃溃疡的作用过程.

关键词: 艾灸预处理; 胃黏膜损伤; 足三里; 孤束核; 脊髓; 前列腺素E_2; 表皮生长因子

核心提示: 本文从分析艾灸的防治作用入手, 进行中枢神经信息通路调控机制的研究, 通过损毁孤束核和切断脊髓, 观察艾灸预处理对大鼠胃黏膜内源性保护物质前列腺素E_2(prostaglandin E_2)、表皮生长因子(epidermal growth factor)含量的影响, 进而探讨艾灸启动内源性保护信息与中枢神经通路的关系.

杨舟, 张国山, 刘密, 章海凤, 雷毅军, 常小荣, 郁保生. 孤束核、脊髓损毁后艾灸预处理对急性胃黏膜损伤大鼠PGE_2与EGF含量的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(16): 1511-1515 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1511.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1511

0 引言

现代应激理论的研究[1-5]结果表明, 艾灸预处理可以激发机体适度应激, 诱导内源性保护物质的释放, 提高机体抗病与应变能力, 并产生减轻或阻抑随后疾病的损伤作用, 是一种既不损伤组织器官又能产生预防疾病效果的有效方法. 我们的前期研究显示, 艾灸预处理足三里等穴可在诱导机体产生相关内源性胃黏膜保护物质的同时, 一方面通过降低炎症反应、抗氧化、抑制细胞凋亡等作用抗胃黏膜损伤; 另一方面启动了胃黏膜细胞增殖、胃黏膜重建等程序促进胃黏膜修复, 最终实现对胃黏膜的保护效应. 至于艾灸效应信息传递的具体通路, 以及如何通过神经、体液通路直接或间接地影响脏腑机能, 尤其是中枢神经系统对其调控的资料很少, 还有待进一步研究阐明. 本研究在损毁大鼠孤束核(nucleus of the solitary tract, NTS)和切断脊髓的前提条件下, 观察艾灸预处理对大鼠急性胃黏膜损伤保护因前列腺素E_2(prostaglandin E_2, PGE_2)和表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)含量的影响, 从而进一步探讨艾灸启动的内源性保护信息对胃黏膜的保护效应与中枢神经通路的关系.

1 材料和方法

1.1 材料 健康SD大鼠50只, 雌雄各半, 体质量220-250 g, 由湖南中医药大学动物实验中心提供(动物合格证号: SCXK<湘>2009-0004), 饲养温度20 ℃-25 ℃, 相对湿度50%-60%, 光线采用12 h/12 h昼夜变化. Φ4 mm温灸纯艾条(南阳汉医责任有限公司), 自制灸架. 酶联免疫吸附法

(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒(SD), HRP goat anti-mouse IgG(Proteintech); BL-410生物信号处理系统(成都泰盟电子有限公司), TGL-16台式冷冻离心机(长沙湘仪天平仪器厂), W-960多功能全自动酶标洗板机、MB酶标仪(深圳汇松科技有限公司), DK-8D型电热恒温水槽(上海精宏实验设备有限公司).

1.2 方法

1.2.1 分组及处理: 按随机数字表法将50只大鼠分为5组, 每组10只动物, 即: A: 空白对照组; B: 模型对照组; C: 温和灸+模型组; D: 温和灸+模型组+孤束核损毁组; E: 温和灸+模型组+脊髓损毁组. 大鼠雌雄分笼饲养7 d, 以适应环境, 提高存活率; 7 d后, 按要求对D、E组大鼠分别实施脊髓、孤束核损毁手术, 并进行术后护理2 d, A、B、C组继续正常饲养2 d; 对A、B组进行捆绑假灸处理, C、D、E组进行捆绑艾灸处理, 共8 d; 处理第8天后, 各组禁食24 h, A组蒸馏水灌胃处理, B、C、D、E组无水乙醇灌胃造模; 造模24 h后, 腹腔注射20%乌拉坦0.6 mL/100 g麻醉, 取胃、脑组织进行指标检测和数据分析.

1.2.2 神经通路损毁方法: (1)孤束核电损毁[6,7]. 大鼠腹腔麻醉(20%乌拉坦, 0.6 mL/100 g), 俯卧固定在脑立体定位仪上, 头部备皮消毒. 使用直刃手术刀由两眼间至颅底沿头正中线切开, 露出颅骨, 标记前囟的位置. 在颅底距离前囟13-14 mm, 前正中线左右旁开1 mm处, 用电钻各开一个1×1 mm的骨窗, 定位参照Paxinos和Watson大鼠脑立体定位图谱[8], 将自制不锈钢绝缘损毁电极(直径0.35 mm, 尖端裸露0.5 mm), 匀速缓慢先后插入两侧的孤束核(AP: 13.2 mm, L/R: 0.9 mm, H: 7.7-7.8 mm). 损毁电极接BL-410生物信号处理系统输出端的正极, 负极夹于切口皮肤黏膜组织, 启动输出阳极直流电, 损毁参数为连续单电流, 强度1 mA, 频率50 Hz, 波宽0.5 ms, 持续30 s, 分别损毁双侧孤束核. 术毕, 缝合伤口. 术后动物肌肉注射青霉素钠每天16万U, 连续1 wk. 待艾灸、造模处理完成后, 取动物脑组织, 做病理切片, HE染色, 光镜下观察分析孤束核的形态, 以此判定孤束核损毁是否成功; (2)脊髓横断损毁[9-11]. 大鼠腹腔麻醉(20%乌拉坦, 0.6 mL/100g), 俯卧固定在手术台上, 背部备皮消毒. 按肋骨确定椎体序列, 由T8至T12沿背部正中线切开, 暴露T9-11椎体棘突及双侧椎板. 骨钳剪除T10椎板, 充分暴露T10水平脊髓, 以弯头眼科镊轻轻挑起脊髓, 正中线切开硬膜后, 用尖锐刀片自脊髓后正中沟垂直插入, 向两侧横向切开, 并去除约2 mm以上脊髓组织, 动物即刻出现摆尾, 双下肢抽搐或尿失禁. 术毕, 缝合切口. 术后动物肌肉注射青霉素钠每天16万U, 连续1 wk. 人工辅助排空动物膀胱2次/d. 以T10段以下呈现弛缓性瘫痪、感觉消失和肌张力消失, 不能维持正常体温, 大便滞留, 膀胱不能排空为标准判定脊髓损毁成功.

1.2.3 腧穴定位: 参考李忠仁主编的《实验针灸学》[12], 采用常用动物穴位定位法及拟人对照法定位, 选取双侧的足三里穴, 位于大鼠膝关节后外侧, 在腓骨小头下约5 mm处.

1.2.4 施灸方法: 温和灸: 将大鼠俯卧捆缚于鼠板, 取穴定位剪毛, 将艾条固定在自制小型艾灸支架上, 对准穴位, 距离穴位约0.5 cm处点燃施灸, 灸处局部温度控制在42 ℃左右. 每次双侧穴位同灸, 30 min/d, 连续处理8 d.

1.2.5 造模方法[13]: 采用无水乙醇灌胃法, 造成急性胃黏膜损伤模型. 艾灸预处理8 d后禁食不禁水24 h, B、C、D、E各组按常规灌胃方法将无水乙醇灌入胃内1次, 剂量为0.6 mL/100 g, A组按同样方法操作灌入生理盐水, 剂量为0.6 mL/100 g.

1.2.6 指标检测: 用ELISA测定胃黏膜PGE_2、EGF的含量(检测单位: 长沙维尔生物技术有限公司).

统计学处理 所有数据均为计量资料, 以mean±SD表示, 用SPSS16.0软件进行处理. 经检验符合正态分布和方差齐性, 采用单因素方差分析(One-way ANOVA), 多组间两两比较用LSD法.

2 结果

(1)与空白组相比, 模型组大鼠胃黏膜中EGF的含量显著增高($P<0.01$), 表明无水乙醇灌胃后, 胃黏膜局部EGF表达增强; (2)与模型组相比, 经艾灸预处理的各组大鼠胃黏膜PGE_2和EGF的含量均有不同程度地升高($P<0.01$, $P<0.05$), 表明艾灸足三里可提高胃黏膜损伤大鼠胃黏膜PGE_2和EGF的含量; (3)与温和灸组相比, 脊髓、孤束核被损毁的两组大鼠胃黏膜PGE_2和EGF的含量明显较低($P<0.01$), 表明脊髓和孤束核参与了艾灸对大鼠胃黏膜组织中PGE_2和EGF表达的促进作用; (4)孤束核损毁的大鼠胃黏膜中PGE_2的含量较脊髓损毁的低($P<0.05$)(表1).

3 讨论

中医理论认为, 人体的健康是以正气为基础的,

■创新盘点

在损毁中枢神经系统中的孤束核和脊髓的前提下, 运用艾灸预处理足三里穴, 通过比较各组大鼠胃黏膜中PGE_2与EGF的含量, 表明孤束核和脊髓对于艾灸调控PGE_2、EGF具有不同程度的作用.

■应用要点

本文通过探讨艾灸预处理对急性胃黏膜损伤保护作用的中枢机制, 证实了艾灸对于内源性保护物质的调控与孤束核、脊髓均存在必然的联系, 为阐明艾灸保护胃黏膜损伤的作用机制提供理论基础.

■名词解释
NTS: 位于延髓背侧部, 是脑干内接受腹腔内脏感觉传入信息的主要核团, 在调节内脏器官活动中有重要作用. NTS既接受来自内脏的各种机械和化学信号及伤害性刺激, 同时还接受来自躯体部位的感觉传入信息, 艾灸和针刺的躯体感觉传入和内脏伤害性刺激传入可能在NTS发生汇聚, 并通过NTS神经元的整合后影响内脏的功能.

表 1 各组大鼠胃黏膜中PGE_2、EGF的比较 (n = 10, mean ± SD, μg/L)

分组	PGE_2	EGF
A组	279.89 ± 18.08	2579.34 ± 308.15
B组	279.52 ± 16.53	2923.73 ± 251.23[b]
C组	338.82 ± 19.87[bd]	4037.12 ± 300.20[bd]
D组	298.65 ± 12.89[ace]	3176.21 ± 242.35[bce]
E组	317.56 ± 16.60[bdef]	3337.43 ± 249.86[bde]

[a]P<0.05, [b]P<0.01 *vs* A组; [c]P<0.05, [d]P<0.01 *vs* B组; [f]P<0.01 *vs* C组; [e]P<0.05 *vs* D组. A: 空白对照组; B: 模型对照组; C: 温和灸+模型组; D: 温和灸+模型组+孤束核损毁组; E: 温和灸+模型组+脊髓损毁组. PGE_2: 前列腺素E_2; EGF: 表皮生长因子.

正气的盛衰在疾病发生与转归中起着决定性作用, 正如《内经》中所云“正气存内, 邪不可干……阴平阳秘, 精神乃治”. 因此, 中医学在治疗方面十分注重扶正固本, 常通过扶助正气以提高机体抗病能力, 达到抵御病邪的目的. 这一传统观点与现代研究中的内源性保护机制有着密切联系, 二者都是通过机体的自主性调节或激发机体自身调节机制而产生适应性作用, 从而维持人体机能活动. 内源性保护机制是机体实现自我保护的一种重要机制, 其本质是适应性反应诱导了内源性保护物质的产生, 通过提高机体的适应能力和抗损伤能力, 维持机体内部的动态平衡. 他表明人体具有自身保护的能力, 具有适应环境刺激、增强自身对抗损伤的调控能力. 内源性保护物质在这一过程中充当了不可或缺的角色.

PGE_2为目前公认的一种内源性细胞保护因子, 他既能削弱损伤因子的作用, 又能增强黏膜抵抗力. EGF是一种具有抑制胃酸分泌, 促进上皮增殖, 组织修复和细胞保护作用的内源性物质, 是近年发现的在细胞增殖和分化中起重要作用的分子. 二者不仅能够有效抑制胃酸、胃蛋白酶的分泌, 降低对黏膜的破坏, 而且PGE_2还可以增加黏膜局部血流, 促进蛋白合成和上皮再生, 介导适应性细胞保护作用, 促使已受损的胃黏膜修复[14-16], EGF则参与了黏膜上皮结构的重建, 对促进细胞内合成代谢、刺激细胞的迁移和增殖、加快上皮细胞的成熟有明显效果[17]. 因此, 无论是在保护胃黏膜免受损伤因子破坏方面, 还是在修复受损胃黏膜、维持胃肠黏膜完整性方面, PGE_2和EGF都起着非常关键的作用.

本实验在大鼠双侧孤束核损毁和T10水平脊髓切断的前提下, 观察艾灸预处理对大鼠急性胃黏膜损伤保护作用, 发现孤束核、脊髓损毁的两组大鼠胃黏膜中PGE_2、EGF的含量要明显低于神经通路未损毁的温和灸组, 二者的损毁不同程度地影响了艾灸对胃黏膜的保护作用, 说明孤束核和脊髓均是艾灸足三里保护胃黏膜信号传导的重要途径.

此外, 通过比较孤束核、脊髓损毁的两组大鼠之间艾灸预处理上调内源性保护物质的作用, 我们发现一方面孤束核损毁组大鼠胃黏膜组织中PGE_2的含量比脊髓切断组大鼠的低, 说明艾灸诱导胃黏膜中PGE_2的产生则可能主要受控于孤束核; 而另一方面, 在对EGF的含量的影响上两组大鼠无明显差异, 提示艾灸诱导胃黏膜中EGF的表达受到孤束核和脊髓的共同调控.

4 参考文献

1 常小荣, 彭娜, 易受乡, 彭艳, 严洁. 艾灸预处理对应激性溃疡大鼠胃黏膜HSP70蛋白及mRNA表达的影响. 世界华人消化杂志 2006; 14: 1252-1256
2 易受乡, 彭艳, 常小荣, 彭娜, 严洁, 林亚平. 艾灸足三里、梁门穴对应激性溃疡大鼠胃黏膜细胞凋亡的干预作用. 世界华人消化杂志 2006; 14: 3163-3168
3 易受乡, 彭艳, 常小荣, 彭娜, 严洁, 林亚平. 艾灸预处理对应激性溃疡大鼠胃黏膜增殖修复的影响. 世界中西医结合杂志 2007; 2: 21-24
4 杜燕, 易受乡, 林亚平, 洪金标, 彭宏, 黄芸, 常小荣, 吴焕淦. 艾灸对急性胃黏膜损伤大鼠热休克蛋白与相关炎性细胞因子的影响. 上海针灸杂志 2010; 29: 269-272
5 刘密, 常小荣, 严洁, 易受乡, 林亚平, 岳增辉, 彭艳, 彭芬. 艾灸预处理对大鼠应激性胃黏膜损伤的保护作用. 中华中医药杂志 2012; 27: 58-62
6 黄碧兰, 张博, 余宙, 王盼, 谈小琴, 徐秀良, 李彩伟. 大鼠孤束核在电针保护应激性胃黏膜损伤中的作用. 咸宁学院学报(医学版) 2008; 22: 1-3
7 王少锦, 孙彦辉, 赵志国, 杨天祝. 大鼠脑立体定向手术校正的三种方法. 河北医科大学学报 2001; 22: 75-77
8 Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 2nd rev.ed. Sydney: Academic press, 1986: F23-F26, 70-72
9 虞琴, 徐娟. 大鼠脊髓半横断损伤对脊神经节P物质表达的影响. 解剖学研究 2008; 30: 8-10, 14
10 杨凯, 胡科跃, 徐小冬, 陈辉. 制作大鼠脊髓损伤模型打开椎管的方法. 解剖学杂志 2009; 5: M0004-M0004
11 童敏, 伍贤平, 陈军, 刘敏. 脊髓完全横断损伤大鼠的骨转换: 超早期高压氧干预之效应. 中国组织工程研究与临床康复 2010; 14: 2684-2687
12 李忠仁. 实验针灸学. 第2版. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 255-257
13 Takano H, Satoh M, Shimada A, Sagai M, Yoshikawa T, Tohyama C. Cytoprotection by metallothionein against gastroduodenal mucosal injury caused by ethanol in mice. *Lab Invest* 2000; 80: 371-377 [PMID: 10744072 DOI: 10.1038/labinvest.3780041]
14 Brzozowski T. Experimental production of peptic ulcer, gastric damage and cancer models and their use in pathophysiological studies and pharmacological treatment--Polish achievements. *J Physiol*

Pharmacol 2003; 54 Suppl 3: 99-126 [PMID: 15075467]
15 Konturek SJ, Konturek PC, Brzozowski T. Prostaglandins and ulcer healing. *J Physiol Pharmacol* 2005; 56 Suppl 5: 5-31 [PMID: 16247187]
16 Gyires K. Gastric mucosal protection: from prostaglandins to gene-therapy. *Curr Med Chem* 2005; 12: 203-215 [PMID: 15638736 DOI: 10.2174/0929867053363478]
17 Konturek PC, Brzozowski T, Duda A, Kwiecien S, Löber S, Dembinski A, Hahn EG, Konturek SJ. Epidermal growth factor and prostaglandin E(2) accelerate mucosal recovery from stress-induced gastric lesions via inhibition of apoptosis. *J Physiol Paris* 2001; 95: 361-367 [PMID: 11595461 DOI: 10.1016/S0928-4257(01)00049-3]

编辑 李军亮 电编 闫晋利

■同行评价
本文通过动物实验说明孤束核和脊髓均是艾灸足三里保护胃黏膜信号传导的重要途径, 从一个侧面阐释了艾灸防治疾病的机制, 具有较强的学术价值, 并对于进一步全面深入的揭示艾灸的作用机制具有积极的意义.

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》正文要求

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2013年6月8日; 21(16): 1516-1521
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

有烟艾灸、无烟艾灸对急性胃黏膜损伤大鼠血清中SOD、MDA的影响

石 佳, 张国山, 刘 密, 刘未艾, 刘金芝, 常小荣

■背景资料
针灸对胃黏膜的保护作用已被大量的临床和实验研究所证实, 灸法作为一种生理性温热刺激源, 在修复急性胃黏膜损伤方面独具优势, 能够提高对氧自由基的清除力, 抑制炎症时氧自由基的过量产生与释放, 减轻对细胞的损伤, 治疗胃肠道疾病.

石佳, 刘金芝, 湖南中医药大学针灸推拿学院 湖南省长沙市 410007
刘密, 常小荣, 国家中医药管理局经穴-脏腑相关重点研究室 湖南省长沙市 410007
张国山, 刘未艾, 湖南省教育厅针灸生物信息分析重点实验室 湖南省长沙市 410007
石佳, 主要从事针灸经络及针灸治病机制的研究.
国家重点基础研究发展计划基金资助项目, No. 2009CB522904
国家自然科学基金资助项目, Nos. 81173326, 81202770
高等学校博士学科点专项科研基金资助课题, Nos. 20124323110001, 20124323120002
湖南省针灸推拿学重点学科基金资助项目
湖南省高校科技创新团队支持计划基金资助项目
湖南中医药大学青年科研基金资助项目
作者贡献分布: 此课题由常小荣与刘金芝设计; 动物模型制作、施灸及样本采集由石佳、张国山及刘密操作完成; 检测分析由刘未艾完成; 数据统筹及统计学分析由石佳与刘未艾完成; 论文写作由石佳与张国山完成.
通讯作者: 常小荣, 教授, 博士生导师, 410007, 湖南省长沙市韶山中路113号, 国家中医药管理局经穴-脏腑相关重点研究室.
xrchang1956@163.com
收稿日期: 2013-03-03 修回日期: 2013-03-24
接受日期: 2013-05-15 在线出版日期: 2013-06-08

Influence of smog moxibustion and non-smog moxibustion on serum SOD and MDA in rats with acute gastric mucosal injury

Jia Shi, Guo-Shan Zhang, Mi Liu, Wei-Ai Liu, Jin-Zhi Liu, Xiao-Rong Chang

Jia Shi, Jin-Zhi Liu, College of Acu-Moxibustion and Tuina, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, Hunan Province, China
Mi Liu, Xiao-Rong Chang, Key Laboratory of Correlativity between Meridian Point and Viscera, State Administration of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410007, Hunan Province, China
Guo-Shan Zhang, Wei-Ai Liu, Key Laboratory of Biological Information Analysis for Acupuncture and Moxibustion, Department of Education of Hunan Province, Changsha 410007, Hunan Province, China
Supported by: the National Key Basic Research and Development Program, No. 2009CB522904; the National Natural Science Foundation of China, Nos. 81173326 and 81202770; the Specialized Research Fund for the Doctoral Program of Higher Education Nos. 20124323110001 and 20124323120002; the Key Subject Foundation of Acu-Moxibustion and Tuina of Hunan Province; the Science and Technology Innovative Research Team Foundation of Higher Educational Institutions of Hunan Province; the Youth Scientific Research Fund of Hunan University of Chinese Medicine
Correspondence to: Xiao-Rong Chang, Professor, Key Laboratory of Correlativity between Meridian Point and Viscera, State Administration of Traditional Chinese Medicine, 113 Shaoshan Middle Road, Changsha 410007, Hunan Province, China. xrchang1956@163.com
Received: 2013-03-03 Revised: 2013-03-24
Accepted: 2013-05-15 Published online: 2013-06-08

Abstract

AIM: To compare the effect of smog moxibustion and non-smog moxibustion in repairing acute gastric mucosal injury in rats.

METHODS: Forty SD rats were randomly and equally divided into four groups: a normal control group, a model group, a smog moxibustion group, and a non-smog moxibustion group. Acute gastric mucosal injury was induced by administering anhydrous alcohol intragastrically. Morphological changes in the gastric mucosa were observed by light microscopy after HE staining. Pathological scoring of inflammatory reaction was performed. The contents of serum SOD and MDA were determined using colorimetric methods.

RESULTS: Compared to the normal control group, pathological score of inflammatory reaction rose significantly in the model group (0.75 ± 0.46 *vs* 7.75 ± 1.67, $P < 0.01$); however, pathological scores of inflammatory reaction were significant lower in the smog moxibustion group and non-smog moxibustion group than in the model group (4.63 ± 0.52, 4.75 ± 0.46 *vs* 7.75 ± 1.67, both $P < 0.01$). There was no significant difference in pathological score of inflammatory reaction between the smog moxibustion group and non-smog moxibustion group. Compared to the normal control group, serum level of SOD decreased significantly (301.48 ± 16.675 *vs* 260.07 ± 15.481, $P < 0.01$) and that of MDA rose significantly (6.77 ± 0.529 *vs* 9.73 ± 0.704, $P < 0.01$) in the model group; however, serum levels of SOD were significantly higher (281.03 ± 17.713, 278.61 ± 17.550 *vs* 260.07 ± 15.481, both $P < 0.05$) and those of MDA were

■同行评议者
袁红霞, 研究员, 天津中医药大学; 郑培永, 副教授, 上海中医药大学脾胃病研究所, 上海中医药大学附属龙华医院消化内科

significantly lower (7.52 ± 0.361, 7.78 ± 0.387 *vs* 9.73 ± 0.704, both $P < 0.01$) in the smog moxibustion group and non-smog moxibustion group. There were no significant differences in serum levels of SOD and MDA between the two moxibustion groups.

CONCLUSION: Smog moxibustion and non-smog moxibustion have a similar effect in repairing acute gastric mucosal injury in rats. Smog moxibustion and non-smog moxibustion exert protective effects against acute gastric mucosal injury via mechanisms possibly associated with raising the content of SOD and reducing the content of MDA.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Smog moxibustion; Non-smog moxibustion; Acute gastric mucosal injury; SOD; MDA

Shi J, Zhang GS, Liu M, Liu WA, Liu JZ, Chang XR. Influence of smog moxibustion and non-smog moxibustion on serum SOD and MDA in rats with acute gastric mucosal injury. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(16): 1516-1521 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1516.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1516

摘要

目的: 观测有烟艾灸、无烟灸对急性胃黏膜损伤修复作用的差异.

方法: 40只SPF级SD大鼠随机分为4组, 即正常对照组、模型组、有烟艾灸组、无烟灸组, 每组10例, 采用无水乙醇灌胃制备急性胃黏膜损伤模型. 采用比色法检测体内超氧化物歧化酶(super oxide dismutase, SOD)的活性、丙二醛(malondialdehyde, MDA)的含量, HE染色光镜下观察胃黏膜组织形态学变化.

结果: (1)胃黏膜组织炎症病理学评分比较: 与正常对照组比较(0.75±0.46), 模型组病理组织学评分明显升高(7.75±1.67 *vs* 0.75±0.46, $P<0.01$); 有烟艾灸组、无烟灸组明显低于模型组(4.63±0.52 *vs* 7.75±1.67、4.75±0.46 *vs* 7.75±1.67, $P<0.01$); 有烟艾灸组与无烟灸组比较无显著差异(4.63±0.52 *vs* 4.75±0.46); (2)血清中SOD、MDA值比较: 与正常对照组比较(301.48±16.675、6.77±0.529), 模型组SOD值明显降低(260.07±15.481 *vs* 301.48±16.675, $P<0.01$)、MDA值明显升高(9.73±0.704 *vs* 6.77±0.529, $P<0.01$); 与模型组比较, 有烟艾灸组、无烟灸组SOD值明显升高, 且有显著性差异(281.03±17.713 *vs* 260.07±15.481、278.61±17.550 *vs* 260.07±15.481, $P<0.05$)、MDA值降低, 有显著性差异(7.52±0.361 *vs* 9.73±0.704、7.78±0.387 *vs* 9.73±0.704, $P<0.01$); 有烟艾灸组较无烟灸组SOD值稍高(281.03±17.713 *vs* 278.61±17.550)、MDA值稍低(7.52±0.361 *vs* 7.78±0.387), 但两组无显著性差异.

结论: (1)有烟艾灸、无烟灸对急性胃黏膜损伤具有修复作用, 且两者之间抗氧化比较没有明显差异; (2)有烟艾灸、无烟灸通过上调SOD活性、降低MDA含量, 调节氧化/还原的动态平衡, 使胃黏膜达到抗氧化损伤的作用.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 有烟艾灸; 无烟灸; 急性胃黏膜损伤; 超氧化物歧化酶; 丙二醛

核心提示: 本研究表明有烟艾灸、无烟灸对急性胃黏膜损伤具有保护作用. 其机制可能为: 艾灸通过上调体内超氧化物歧化酶(super oxide dismutase)活性、降低丙二醛(malondialdehyde)含量, 调节氧化/还原的动态平衡, 使胃黏膜达到抗氧化损伤的作用, 并且两者在抗氧化效果方面没有明显差异.

石佳, 张国山, 刘密, 刘未艾, 刘金芝, 常小荣. 有烟艾灸、无烟艾灸对急性胃黏膜损伤大鼠血清中SOD、MDA的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(16): 1516-1521 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1516.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1516

0 引言

急性胃黏膜损伤是机体在严重创伤、烧伤、休克、感染以及内脏功能严重受损等多种危重情况下发生的, 以胃黏膜的糜烂、溃疡、出血为主要特征的急性应激性病变. 胃黏膜损伤的产生是胃黏膜攻击因子增加和胃黏膜保护因子减少造成的. 本病是全球性多发病, 发病率可能占人口的10%-20%, 其发病率有逐年上升的趋势[1]. 艾灸作为中医学瑰宝之一, 对治疗胃病及对胃黏膜的保护作用已被大量的临床观察和实验研究所证实. 本实验以急性胃黏膜损伤大鼠为病理模型, 通过观察大鼠的病理组织形态学观察、病理组织切片、体内超氧化物歧化酶(super oxide dismutase, SOD)、丙二醛(malondi-

■研发前沿
已有大量的研究证明氧自由基参与了胃黏膜的损伤. 超氧化物歧化酶(super oxide dismutase, SOD)是自由基的清除防御系统最重要的标志酶之一, 乙二醛(malondialdehyde, MDA)含量, 常常可反映机体内脂质过氧化的程度, 间接反映出细胞损伤的程度, MDA与SOD在体内的含量是否达到平衡, 决定了胃黏膜是否受损.

■相关报道
唐照亮通过艾灸对实验性炎症大鼠血清SOD活性和MDA含量的影响发现, 艾灸能提高对氧自由基的清除力, 抑制炎症时氧自由基的过量产生与释放, 减轻对细胞的损伤, 起到了消炎、抗氧化和细胞保护的作用.

aldehyde, MDA)的含量, 比较有烟艾灸、无烟灸对急性胃黏膜损伤的修复作用的差异, 现报告如下.

1 材料和方法

1.1 材料 健康SPF级SD大鼠40只, 雌雄各半, 体质量220-250 g. 来自湖南中医药大学实验动物中心. 动物编号, 随机分为A组: 正常对照组、B组: 模型组、C组: 有烟艾灸组、D组: 无烟灸组, 每组10只. 大鼠SOD试剂盒、大鼠MDA试剂盒(南京建成科技有限公司); 无水乙醇, 20%乌拉坦, 40%多聚甲醛(湖南中医药大学针灸推拿实验室配制). 有烟艾条选择南阳市汉医艾绒有限责任公司生产, 直径4 mm, 长度120 mm. 无烟艾条选择南阳市万春堂天然艾草生物制品开发有限公司生产, 直径4 mm, 长度120 mm. 紫外可见光分光光度计(上海第三分析仪器厂); 净化工作台(吴江市汾湖镇金家坝金祝五金净化厂); 超低温冰箱(日本SANYO公司); 恒冷箱切片机(CM1850型, 德国LEICA); 低温离心机(ZK380型, 德国HERMLE); 石蜡切片机(4062型, 德国SLEE); 恒温振荡培养箱(上海博讯实业有限公司医疗设备厂).

1.2 方法

1.2.1 急性胃黏膜损伤造模: 除对照组外, B、C、D组以95%无水乙醇按0.5 mL/100 g灌胃造模.

1.2.2 穴位定位及施灸: 取大鼠足三里、中脘、天枢穴. 参考李忠仁主编的《实验针灸学》[2], 采用常用动物穴位定位法及拟人对照法定位. 足三里位于膝关节后外侧, 在腓骨小头下5 mm处; 中脘在腹白线上, 脐与胸剑联合连线的中点处; 天枢在脐眼旁开3 cm. B、C、D组大鼠于造模24 h后、将大鼠固定于鼠板上, B组不采用任何处理, C组采用有烟艾灸固定在灸架上保持与穴位距离3 cm使灸温基本维持在43 ℃-45 ℃灸中脘、足三里(双侧)、天枢(双侧), D组采用无烟灸固定在灸架上保持与穴位距离3 cm使灸温基本维持在43 ℃-45 ℃灸中脘、足三里(双侧)、天枢(双侧), C、D组每次灸20 min, 6次/wk, 共灸2 wk. A组只将老鼠固定于鼠板, 每次固定20 min, 6次/wk, 共2 wk.

1.2.3 标本提取及处理: 12 d后, 所有大鼠腹腔注射20%乌拉坦(1 mL/100 g), 剖腹后, 将胃的幽门部和贲门部用止血钳结扎, 快速用一次性负压采血针从腹主动脉采血5 mL置于37 ℃恒温水浴箱30 min, -4 ℃低温离心, 3000 r/min, 10 min, 离心后提取上清液置于-20 ℃冰箱保存备测. 采血后每组每只老鼠取胃窦部组织一小块(约5 mm×10 mm/块)放入4%多聚甲醛中固定24 h, 石蜡包埋, 间断连续切片(厚度4 μm)、烤片、常规脱蜡.

1.2.4 检测指标: HE染色: 切片脱蜡入水, 将石蜡切片浸入二甲苯Ⅰ以溶去石蜡(5-10 min); 用二甲苯Ⅱ次清洗残存石蜡(3-5 min); 无水乙醇Ⅰ洗去二甲苯(5 min); 按顺序入950 mL/L、800 mL/L、700 mL/L浸泡(5 min); 自来水冲洗. 切片由水中转入明矾苏木精液染色(5-10 min); 自来水洗去浮色(10 s); 1%盐酸酒精分色(5-10 s); 自来水冲洗(5-10 min)促蓝; 1%伊红水溶液进行复染(3-5 min); 按顺序经80 mL/L、950 mL/L、无水乙醇脱水兼分化伊红的颜色; 二甲苯透明; 中性树胶封固, 光镜下观察组织学改变并评分, 每张切片随机选取4个视野照相. 病理损伤及积分: 胃黏膜常规石蜡包埋切片, HE染色, 以Mascuda等[3]标准进行损伤程度累积计分: 正常为0分, 表层上皮损伤为1分, 上层黏膜充血水肿为2分, 中/下层黏膜充血、出血和水肿为3分, 黏膜上层腺体结构紊乱或坏死为4分, 有深层的坏死或溃疡为5分. 每张切片的损伤累积计分, 最大不超过15分. 氧化损伤相关指标测定: SOD和MDA均采取比色法(试剂盒来源: 南京建成科技有限公司).

统计学处理 本实验采用完全随机设计. 所有测量数据用mean±SD表示. 所有资料进行正态性、方差齐性检验, 满足正态性及方差齐性者, 组间比较采用单因素方差分析的最小显著差异法(LSD)检验; 不满足条件者采用秩和检验. 所有数据使用SPSS17.0软件进行处理, 以$P<0.05$为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 不同处理方法对大鼠胃组织形态学的影响 A组(图1A)可见胃底黏膜层的上皮、固有层和部分黏膜肌层, 胃黏膜表面细胞完整, 无任何损害. 与A组比较, B组(图1B)大鼠胃黏膜出现明显坏死、炎症细胞浸润、下有明显充血的急性炎症反应; 与B组比较, C(图1C)、D(图1D)组黏膜表面有部分坏死, 血管内充血情况明显改善, 炎症细胞浸润较少.

结果如表1所示: 与A组比较, B组病理组织学评分明显升高($P<0.01$); C组、D组病理组织学评分明显低于B组($P<0.01$); C组病理组织学评分

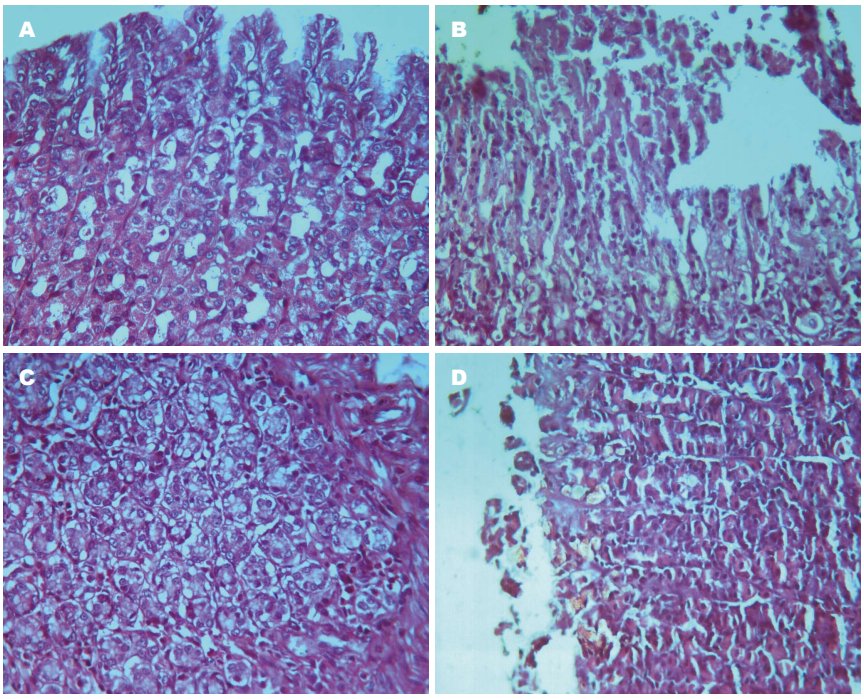


图 1 各组大鼠胃黏膜光镜观察结果. A: 正常对照组; B: 模型组; C: 有烟艾灸组; D: 无烟灸组.

■创新盘点

本实验通过比较有烟艾灸、无烟灸对急性胃黏膜损伤大鼠胃组织形态学观察、血清中SOD、MDA含量的差异. 揭示艾灸通过上调SOD活性、降低MDA含量, 调节氧化/还原的动态平衡, 达到抗氧化损伤的作用, 实验表明有烟艾灸、无烟灸对急性胃黏膜损伤具有保护和修复作用, 且两者之间抗氧化方面没有明显差异.

表 1 各组大鼠胃组织炎症损伤病理学评分的比较 (mean ± SD, n = 10)

分组	病理组织学评分(分)
正常对照组	0.75 ± 0.46[bd]
模型组	7.75 ± 1.67[d]
有烟艾灸组	4.63 ± 0.52[b]
无烟灸组	4.75 ± 0.46[b]

[b]P<0.01 *vs* 模型组; [d]P<0.01 *vs* 有烟艾灸组.

表 2 各组大鼠血清SOD、MDA含量比较 (mean ± SD, n = 10)

分组	SOD含量(U/mgprot)	MDA含量(nmol/mL)
正常对照组	301.48 ± 16.675[bc]	6.77 ± 0.529[bc]
模型组	260.07 ± 15.481[c]	9.73 ± 0.704[d]
有烟艾灸组	281.03 ± 17.713[a]	7.52 ± 0.361[b]
无烟灸组	278.61 ± 17.550[a]	7.78 ± 0.387[b]

[a]P<0.05, [b]P<0.01 *vs* 模型组; [c]P<0.05, [d]P<0.01 *vs* 有烟艾灸组. SOD: 超氧化物歧化酶; MDA: 丙二醛.

与D组比较无显著差异; 说明有烟艾灸、无烟灸对胃黏膜损伤的炎症浸润有抑制作用, 能促进胃黏膜的修复.

2.2 不同处理方法对大鼠血清SOD、MDA的影响 结果如表2所示: 与A组比较, B组SOD值明显降低(P<0.01); 与B组比较, C组、D组SOD值明显升高, 且有显著性差异(P<0.05); C组SOD值较D组稍高, 但两组无显著性差异. 提示有烟艾灸、无烟灸可以刺激胃黏膜细胞产生大量的SOD.

B组与A组比较, MDA值明显升高(P<0.01); C组、D组与B组比较, MDA值明显降低, 且有显著性差异(P<0.01); C组MDA值较D组稍低, 但两组无显著性差异. 提示有烟艾灸、无烟灸可以抑制胃黏膜细胞产生MDA.

3 讨论

急性胃黏膜损伤(acute gastric mucosal lesion, AGML)[4]是机体在严重创伤、烧伤、休克、感染以及内脏功能严重受损等多种危重情况下发生的, 以胃黏膜的糜烂、溃疡、出血为主要特征的急性应激性病变.

多年来大量的临床研究与动物实验发现, AGML的发生机制颇为复杂, 致病因子不同, AGML的发生机制侧重点也不尽相同. 事实上, 无论具体致病因子有哪些, AGML发生机制基本表现为损伤因子对胃黏膜的破坏与胃黏膜防御机能的平衡失调. 综合已有的文献资料, 胃黏膜能量代谢障碍、胃黏膜酸碱平衡紊乱、自由基产生增多、胃黏膜屏障功能破坏等几方面导致AGML的形成.

根据急性胃黏膜损伤的主要症状和特征属中医的“胃脘痛”、“痞证”范畴, 又与“吞酸”、“胁痛”等有密切关系, 是以上腹胃脘部近心窝处经常发生疼痛为主证. 艾灸疗法以

■应用要点
运用艾灸、无烟灸疗法治疗急性胃黏膜损伤性疾病如急性消化性溃疡、各型急慢性胃炎，扶助正气、促进修复.

其独特优势在临床广泛应用，尤其在治疗胃肠疾病方面常常取得意想不到的疗效.

已有大量的研究证明氧化损伤是胃病转归过程中："正常胃黏膜-发生炎症-出现肠化生-细胞异型增生-癌变"的重要转化机制[5]. 氧自由基是形成应激性溃疡的重要原因之一[6]，许多实验表明，他参与了胃黏膜的损伤[7]. 他可通过攻击生物膜中多聚不饱和脂肪酸形成一系列脂质过氧化物及其降解产物丙二醛等，导致组织损伤，引起和加剧炎症反应，此外还可与蛋白质和酶发生反应，导致细胞坏死[8]. SOD是一种金属蛋白酶，是胃黏膜保护因子之一，他是在实验中应用最多、最具有临床价值的抗氧化酶[9-11]. SOD是自由基的清除防御系统最重要的标志酶之一，在胃壁细胞内活性很高，可在一定程度上反映机体清除自由基能力的大小[12]. MDA含量，常常可反映机体内脂质过氧化的程度，间接反映出细胞损伤的程度[13]. MDA与SOD在体内的含量是否达到平衡，决定了机体的状态是健康还是病态[14]. 大量实验证明，SOD和MDA的含量可以反应胃黏膜的受损程度. 通过研究艾灸对实验性炎症大鼠血清SOD活性和MDA含量的影响发现[15]，艾灸能提高对氧自由基的清除力，抑制炎症时氧自由基的过量产生与释放，减轻对细胞的损伤，起到了消炎、抗氧化和细胞保护作用，并且提示艾灸对氧自由基代谢的调整作用，可能是灸疗抗炎免疫机制的一个重要方面. 本实验从"艾灸足三里、中脘、天枢穴→调节氧化损伤相关因子→保护胃黏膜"的思路出发，比较了有烟艾灸、无烟灸对急性胃黏膜损伤大鼠胃组织形态学观察、病理组织学评分，血清中SOD、MDA的含量的差异. 结论发现：有烟艾灸、无烟灸对急性胃黏膜损伤具有保护和修复作用，且两者之间在抗氧化方面无明显差异. 采用有烟艾灸、无烟灸都可使血清中抗氧化酶SOD水平升高而MDA水平降低，且从数值看，有烟艾灸组使SOD升高、MDA水平降低更明显，但并没有统计学意义. 大量的临床研究和基础实验已探讨了针灸对胃肠道抗氧化因子的影响与肠胃疾病转归的关系. 近几年的研究显示，针灸治疗胃黏膜损伤的机制之一，就是在改善症状的同时可以调节机体的抗氧化因子，从而增强或调整机体的抗氧化功能.

本研究发现，有烟艾灸和无烟灸通过提高SOD的活性并上调其水平，清除急性胃黏膜损伤后产生的过量氧自由基，降低脂质过氧化物MDA的含量，阻断氧自由基在胃黏膜组织的沉积并减少对胃黏膜组织细胞造成的损害，同时修复因氧自由基而受损的细胞，以此来调控氧化/还原的动态平衡，对胃黏膜组织的损伤产生修复作用，为临床无烟灸的应用提供一定的依据.

4 参考文献

1 孙九玲. 急性胃粘膜病变治疗进展. 新消化病学杂志 1996; 4: 230-231
2 李忠仁, 方剑乔, 易受乡, 郭义. 实验针灸学. 第2版. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 255-257
3 Masuda E, Kawano S, Nagano K, Tsuji S, Takei Y, Hayashi N, Tsujii M, Oshita M, Michida T, Kobayashi I. Role of endogenous endothelin in pathogenesis of ethanol-induced gastric mucosal injury in rats. *Am J Physiol* 1993; 265: G474-G481 [PMID: 8214070]
4 朱立, 杨宗诚. 急性胃黏膜损伤及其发病机制. 中国烧伤创疡杂志 1997; 2: 2-7
5 陆为民, 单兆伟, 沈洪, 吴静, 王丽珠, 王瑶. 胃舒胶囊对大鼠萎缩性胃炎癌前病变血液LPO、SOD、GSH-PX的影响. 世界华人消化杂志 2000; 8: 480-481
6 Shetty BV, Arjuman A, Jorapur A, Samanth R, Yadav SK, Valliammai N, Tharian AD, Sudha K, Rao GM. Effect of extract of Benincasa hispida on oxidative stress in rats with indomethacin induced gastric ulcers. *Indian J Physiol Pharmacol* 2008; 52: 178-182 [PMID: 19130862]
7 Tagliazucchi D, Verzelloni E, Conte A. Effect of dietary melanoidins on lipid peroxidation during simulated gastric digestion: their possible role in the prevention of oxidative damage. *J Agric Food Chem* 2010; 58: 2513-2519 [PMID: 20070103 DOI: 10.1021/jf903701h]
8 Arikan S, Durusoy C, Akalin N, Haberal A, Seckin D. Oxidant/antioxidant status in recurrent aphthous stomatitis. *Oral Dis* 2009; 15: 512-515 [PMID: 19761497 DOI: 10.1111/j.1601-0825.2009.01580.x]
9 João Cabrera E, Valezi AC, Delfino VD, Lavado EL, Barbosa DS. Reduction in plasma levels of inflammatory and oxidative stress indicators after Roux-en-Y gastric bypass. *Obes Surg* 2010; 20: 42-49 [PMID: 19826889 DOI: 10.1007/s11695-009-9988-2]
10 Mishra D, Gupta R, Pant SC, Kushwah P, Satish HT, Flora SJ. Co-administration of monoisoamyl dimercaptosuccinic acid and Moringa oleifera seed powder protects arsenic-induced oxidative stress and metal distribution in mice. *Toxicol Mech Methods* 2009; 19: 169-182 [PMID: 19778263 DOI: 10.1080/15376510701795751]
11 Mármol F, Sánchez J, López D, Martínez N, Mitjavila MT, Puig-Parellada P. Oxidative stress, nitric oxide and prostaglandin E2 levels in the gastrointestinal tract of aging rats. *J Pharm Pharmacol* 2009; 61: 201-206 [PMID: 19178767]
12 邢燕玲, 游俊. 四君子汤对脾气虚型慢性萎缩性胃炎大鼠胃黏膜血流量及血清SOD与MDA含量的影响. 山西中医学院学报 2007; 8: 22-24
13 王昕宇, 马成. 平胃散对脾虚湿困大鼠胃组织SOD、MDA含量的影响. 新疆中医药 2007; 25: 62-65

14 魏国娈, 刘新生, 邵祖燕. 五丹胃福汤对慢性萎缩性胃炎模型大鼠自由基水平的影响. 中国中西医结合消化杂志 2002; 10: 352-354

15 唐照亮, 章复清. 艾灸对实验性炎症大鼠血清SOD活性和MDA含量的影响. 安徽中医学院学报 1998; 17: 44-46

编辑 田滢 电编 闫晋利

■同行评价

本文通过采用无水乙醇灌胃制备急性胃黏膜损伤模型, 探讨有烟艾灸、无烟灸对急性胃黏膜损伤修复作用的差异. 从氧化因子方面阐释了灸法治疗疾病的机制, 具有一定的学术价值.

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》出版流程

本刊讯 《世界华人消化杂志》[ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569]是一份同行评议性和开放获取(open access, OA)的旬刊, 每月8、18、28号按时出版. 具体出版流程介绍如下:

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

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

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

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

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

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

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

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

《世界华人消化杂志》从收稿到发行每一步都经过严格审查, 保证每篇文章高质量出版, 是消化病学专业人士发表学术论文首选的学术期刊之一. 为保证作者研究成果及时公布, 《世界华人消化杂志》保证每篇文章四月内完成. (《世界华人消化杂志》编辑部)

世界华人消化杂志 2013年6月8日; 21(16): 1522-1526
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

光敏化姜黄素对人胃腺癌MGC-803细胞的影响及其在细胞内的分布

蓝宇涛, 旷焱平, 陈 垦, 何博华, 迟作华, 王林静, 刘革修

■背景资料
手术、化疗和放疗是传统的3大治疗胃癌的方法, 这些方法在杀伤肿瘤细胞的同时, 也会带来严重的并发症. 光动力学疗法(photodynamic therapy, PDT)能选择性地杀伤肿瘤组织, 而对周围组织影响较小, 成为一种新的非常有前景的肿瘤治疗方法.

蓝宇涛, 旷焱平, 陈垦, 广东药学院护理学院 广东省广州市 510006
何博华, 迟作华, 广东药学院临床学院 广东省广州市 510006
王林静, 广东药学院公共卫生学院 广东省广州市 510006
刘革修, 暨南大学医学院血液学研究所 广东省广州市 510632
蓝宇涛, 博士, 副教授, 主要从事消化系统疾病的相关研究.
广东省中医药管理局基金资助项目, No. 2010414
广东药学院护理学院广东省特色专业建设经费资助项目, No. TS11060
广东药学院师资队伍建设经费资助项目, No. 11
作者贡献分布: 此课题由蓝宇涛与旷焱平设计; 细胞培养、论文写作由蓝宇涛、 旷焱平及迟作华完成; 论文校正由陈垦完成; 数据统计由王林静与何博华完成.
通讯作者: 陈垦, 教授, 主任医师, 510006, 广东省广州市海珠区赤岗南华大街68号, 广东药学院护理学院. chenkenck@126.com
电话: 020-34055856
收稿日期: 2013-04-03 修回日期: 2013-04-22
接受日期: 2013-05-12 在线出版日期: 2013-06-08

Photoactivaed curcumin inhibits cell growth and promotes apoptosis in human gastric cancer cell line MGC-803

Yu-Tao Lan, Yan-Ping Kuang, Ken Chen, Bo-Hua He, Zuo-Hua Chi, Lin-Jing Wang, Ge-Xiu Liu

Yu-Tao Lan, Yan-Ping Kuang, Ken Chen, Nursing School, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, Guangdong Province, China
Bo-Hua He, Zuo-Hua Chi, School of Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, Guangdong Province, China
Lin-Jing Wang, School of Public Health, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, Guangdong Province, China
Ge-Xiu Liu, Institute of Hematology, School of Medicine, Jinan University, Guangzhou 510632, Guangdong Province, China
Supported by: the Foundation of Administration of Traditional Chinese Medicine of Guangdong Province, No. 2010414; the Special Discipline Construction Foundation of Guangdong Province, No. TS11060; the Faculty Construction Fund of Guangdong Pharmaceutical University, No. 11
Correspondence to: Ken Chen, Professor, Chief Physician, Nursing School, Guangdong Pharmaceutical University, 68 Chigang Nanhua Street, Haizhu District, Guangzhou 510006, Guangdong Province, China. chenkenck@126.com
Received: 2013-04-03 Revised: 2013-04-22
Accepted: 2013-05-12 Published online: 2013-06-08

Abstract

AIM: To investigate the effect of photoactivated curcumin on cell growth and apoptosis in human gastric cancer cell line MGC-803 and to analyze its intracellular distribution.

METHODS: After MGC-803 cells were treated with 5.0 μmol/L of photoactivated curcumin for different durations (12, 24 and 48 h), cell growth was assessed by MTT assay; apoptosis was determined by flow cytometry; nuclear morphological changes were detected by fluorescence microscopy; and the distribution of intracellular curcumin was examined by confocal laser microscopy.

RESULTS: The reduced rates of cell growth were 35.53% ± 3.52%, 40.17% ± 2.01% and 44.93% ± 3.61% in MGC-803 cells treated with photoactivation curcumin for 12, 24 and 48 h, and the apoptosis rates were 20.32% ± 3.07%, 22.46% ± 1.51% and 26.58% ± 2.67%. Compared to the control group, the reduced rates of cell growth were significantly lower and apoptosis rates were significantly higher in the photoactivation curcumin group at all time points (all $P < 0.05$). Obvious apoptotic bodies were observed after treatment with photoactivated curcumin for 48 hours. Photoactivated curcumin was mainly distributed in the cell membrane and nuclear membrane. Scattered distribution of photoactivated curcumin was noted in other subcellular structures.

CONCLUSION: Photoactivated curcumin can inhibit growth and promote apoptosis of gastric cancer cells in a time-dependent manner. Photoactivated curcumin is mainly located in the plasma membrane and nuclear membrane and sporadically in other subcellular structures.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Curcumin; Photoactivated; MGC-803 cells; Apoptosis; Photodynamic therapy

Lan YT, Kuang YP, Chen K, He BH, Chi ZH, Wang LJ, Liu GX. Photoactivaed curcumin inhibits cell growth and promotes apoptosis in human gastric

■同行评议者
程英升, 教授, 上海交通大学附属第六人民医院放射科; 侯风刚, 副教授, 副主任医师, 上海中医药大学附属市中医医院肿瘤科

cancer cell line MGC-803. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(16): 1522-1526 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1522.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1522

摘要

目的: 探讨光敏化姜黄素对人胃腺癌MGC-803细胞的影响及其细胞内的分布情况.

方法: 用MTT法检测细胞株的增殖抑制率, 流式细胞仪检测细胞的凋亡率, 荧光显微镜观察细胞核形态; 激光共聚焦显微镜观察姜黄素在细胞内的分布.

结果: 光敏化姜黄素作用于MGC-803细胞12、24、48 h后, MTT法检测细胞的抑制率分别为35.53%±3.52%、40.17%±2.01%、44.93%±3.61%; 凋亡率分别为20.32%±3.07%、22.46%±1.51%、26.58%±2.67%, 与对照组比较差异有统计学意义(P<0.05). 光敏化姜黄素作用48 h后能见明显的凋亡小体. 激光共聚焦显微镜下观察光敏化姜黄素发出的黄色荧光主要在细胞质膜、核膜呈聚集性分布, 散在分布于其他亚细胞结构, 细胞核分布较少.

结论: 光敏化姜黄素能抑制胃癌细胞的生长及凋亡, 具有显著的光动力学效应, 随作用时间的延长而逐渐增加. 光敏剂主要分布于细胞质膜和核膜, 散在分布于其他亚细胞结构, 细胞核分布较少.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 姜黄素; 光敏化; 胃癌MGC-803; 凋亡; 光动力学治疗

核心提示: 光敏化姜黄素作用于MGC-803细胞后, 具有明显促进细胞抑制和凋亡的作用, 能见明显的凋亡小体. 激光共聚焦显微镜下观察光敏化姜黄素发出的黄色荧光主要在细胞质膜、核膜呈聚集性分布, 散在分布于其他亚细胞结构, 细胞核分布较少.

蓝宇涛, 旷焱平, 陈垦, 何博华, 迟作华, 王林静, 刘革修. 光敏化姜黄素对人胃腺癌MGC-803细胞的影响及其在细胞内的分布. 世界华人消化杂志 2013; 21(16): 1522-1526 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1522.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1522

0 引言

光动力学疗法(photodynamic therapy, PDT)是一种能诱导细胞坏死和凋亡的细胞毒性治疗方法. PDT作用的主要因素包括光敏感物质(光敏剂)、可见光及氧分子. 随着光敏物质、光激活装置和导光系统的发展和进步, PDT与传统治疗联合应用于癌症已逐渐被接受. PDT具有很好的选择性和适用性, 可重复, 协同手术能提高疗效, 还可消灭隐性癌病灶, 同时可保护容貌及重要器官功能. 光敏剂是决定PDT效应的关键因素之一. 本文主要研究光敏化姜黄素对人胃腺癌MGC-803细胞的影响及其在细胞内的分布.

1 材料和方法

1.1 材料 人胃腺癌MGC-803细胞株(中山大学动物实验中心提供), 姜黄素(Sigma公司), 小牛血清, RPMI-1640(华美公司).

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及药物处理: 人胃腺癌MGC-803细胞于含10%小牛血清、100 U/mL青霉素及100 U/mL链霉素的RPMI 1640培养液、5%CO_2、37 ℃培养传代. 细胞按1-2×10^5/mL接种, 37 ℃培养24 h后按实验要求加入一定浓度的姜黄素, 对照组加同量的溶剂, 继续培养24 h后即收集细胞. 姜黄素(Sigma公司)0.1842 g先用100 μL DMSO溶解后, 用无水乙醇定容至50 mL, 即为10 mmol/L姜黄素母液, 分装0.5 mL/管, -20 ℃避光冻存. 应用时以细胞培养液稀释至所需浓度.

1.2.2 激光照射: PDT组用姜黄素避光2 h, PBS 3次, 加入培养液, 即刻用激光器照射. 前期研究结果显示姜黄素吸收波长在360-480 nm范围内具有明显的PDT作用[1]. 本研究选择的波长为405 nm.

1.2.3 MTT法检测细胞的抑制率: 细胞分为单纯姜黄素组和PDT组. 前期研究结果显示5.0 μmol/L具有较好的处理效应[1]. 单纯姜黄素组处理因素为5.0 μmol/L姜黄素和避光. PDT组处理因素为5.0 μmol/L姜黄素和激光照射, 分别检测不同培养时间段的抑制率(12、24、48 h).

1.2.4 荧光显微镜观察细胞核形态: 荧光显微镜下观察单纯姜黄素组和PDT组细胞核形态并拍照.

1.2.5 Annexin V-PI 双染测定细胞凋亡: 分别检测单纯姜黄素组和PDT组细胞检测不同培养时间段的凋亡率(12、24、48 h).

1.2.6 激光共焦扫描显微镜观察光敏化姜黄素在胃癌细胞内的分布: 采用Leica TCSS-SP2型激光共聚焦扫描显微镜观察单纯姜黄素组和PDT组细胞内的荧光分布, 利用层析技术断层扫描细

■研发前沿
基础研究显示姜黄素治疗肿瘤的效果, 光敏化能进一步促进姜黄素的杀伤肿瘤作用, 但激光的波长和剂量不一, 其效果也不一. 姜黄素在细胞内的具体定位能决定姜黄素给药的最佳剂量. 诱导肿瘤细胞凋亡的机制以及光动力治疗的有效激光作用剂量及激光波长的选择等还有待进一步研究.

■相关报道
戴维德等的研究表明第2代光敏剂HMME在细胞内的亚细胞具体定位, 认为线粒体、溶酶体、内质网和高尔基体均有分布. 汲振余认为光敏剂的亲脂性和所带电荷决定了肿瘤细胞中的亚细胞定位和分布浓度. 其次还与细胞类型或孵育时间有关.

■创新盘点

本文研究光敏化姜黄素应用于人胃腺癌MGC-803细胞的增值抑制率、凋亡率及细胞核形态的变化，并用激光共聚焦显微镜观察细胞内的分布情况. 初步解决姜黄素可作为PDT的光敏剂应用于临床的关键问题，即光敏化姜黄素对胃癌细胞的PDT作用的主要靶点，为确定姜黄素的给药剂量做好基础研究. 进一步拓展姜黄素的药用价值和开发利用的前景.

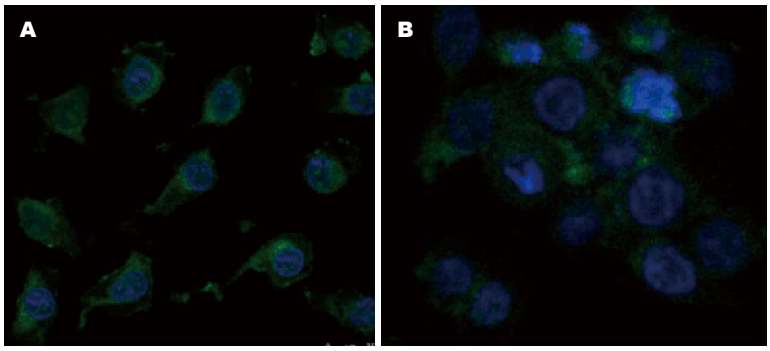


图 1 姜黄素在细胞中的分布(×400). A: 姜黄素分布于细胞核核膜及其周围; B: 姜黄素分布于细胞质膜及其周围.

表 1 不同作用时间光敏化姜黄素对MGC-803细胞抑制率的影响 (mean ± SD, n = 10, %)

分组	抑制率		
	12 h	24 h	48 h
空白对照组	1.16 ± 0.34	1.97 ± 1.65	2.85 ± 0.87
单纯姜黄素组	18.94 ± 1.26	24.50 ± 4.50	29.74 ± 2.30
光动力学疗法组	35.53 ± 3.52	40.17 ± 2.01	44.93 ± 3.61

表 2 不同作用时间光敏化姜黄素对MGC-803细胞凋亡率的影响 (mean ± SD, n = 10, %)

分组	凋亡率		
	12 h	24 h	48 h
空白对照组	1.74 ± 1.43	2.06 ± 2.56	3.34 ± 0.55
单纯姜黄素组	6.04 ± 2.34	8.04 ± 1.30	12.54 ± 1.75
光动力学疗法组	20.32 ± 3.07	22.46 ± 1.51	26.58 ± 2.67

胞内部结构, 分析姜黄素在细胞内的分布情况.

统计学处理 应用SPSS15.0统计学软件进行统计. 计量资料采用mean±SD, 用重复测量变量的方差分析进行两两比较, 以P<0.05为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 光敏化姜黄素诱导人胃腺癌MGC-803细胞抑制情况 单纯5.0 μmol/L姜黄素对MGC-803细胞显示有明显的增殖抑制作用, 48 h后细胞增殖抑制率为29.74%±2.30%[1]; 光敏化增强了姜黄素对MGC-803细胞的增殖抑制作用, 培养12 h和24 h后细胞的抑制率分别为35.53%±3.52%、40.17%±2.01%, 培养48 h后, 细胞抑制率增加到44.93%±3.61%, 在一定范围内, 随作用时间的延长而逐渐增加. 不同作用时间, PDT组与单纯姜黄素组比较, 差异有统计学意义(P<0.05)(表1).

2.2 光敏化姜黄素诱导人胃腺癌MGC-803细胞凋亡的情况 前期研究表明, 单纯5.0 μmol/L的姜黄素能够影响MGC-803细胞的周期分布, 诱导MGC-803细胞凋亡: G_0/G_1期细胞明显增多, G_2/M期细胞下降. 其细胞凋亡率为(12.54±1.75)%[1]. 光敏化进一步增强了诱导细胞凋亡的作用, 培养12 h和24 h后细胞的凋亡率分别为20.32%±3.07%、22.46%±1.51%, 培养48 h后, 其细胞凋亡率升高为26.58%±2.67%, 在一定范围内, 随作用时间的延长而逐渐增加. 不同作用时间, PDT组与单纯姜黄素组比较差异有统计学意义(P<0.05)(表2).

2.3 光敏化姜黄素诱导人胃腺癌MGC-803细胞形态的影响 单纯姜黄素组MGC-803细胞形态规则, 可见部分细胞凋亡. PDT组采用能量密度40.2 J/cm^{2}的405 nm波长的激光照射后, 培养48 h后, 可见明显细胞凋亡[1]. 同时细胞数目减少, 部分细胞体积缩小, 形态不规则, 圆形细胞分解增多, 见凋亡小体, 呈典型凋亡改变.

2.4 光敏化姜黄素在MGC-803细胞内的分布 经405 nm, 40.2 J/cm^{2}波长的激光照射后的姜黄素(光敏化姜黄素)本身能发出黄色荧光. 在激光共聚焦显微镜下可以观察到光敏化姜黄素发出的黄色荧光主要在细胞质膜及核膜处呈聚集性分布, 其他细胞结构也有散在分布, 细胞核分布较少(图1).

3 讨论

PDT是一种能诱导细胞凋亡和坏死的细胞毒性治疗方法, 主要因素包括光敏剂、可见光及氧分子. 光敏剂吸收能量后产生对细胞有不良作用的活性氧(reactive oxygen species, ROS). 其中光敏剂是决定PDT效应的关键因素之一. 激光照射可选择性地杀伤肿瘤细胞, 而对正常细胞的影响极小. 这一特点让PDT成为有前景的肿瘤治疗方法, 对不能承受手术, 放疗不敏感的晚期胃癌患者选择PDT治疗效果较好.

姜黄素已在基础研究中显示出其光敏效应强、抗癌作用强、毒性低、用量低等优点, 具有很好的应用前景. Moragoda等[2]研究发现姜黄素能诱导胃癌和结肠癌细胞凋亡. Link等[3]也研究了姜黄素对结肠癌细胞的作用. Bush等[4]发现姜黄素也能诱导恶性黑素瘤凋亡. Wei等[5]和Cheng等[6]最近也研究了姜黄素对前列腺癌细胞的影响. 同时Du等[7]、Masuelli等[8]、Zhang等[9]还研究了姜黄素对肝癌、乳癌和甲状腺癌细胞的抗癌效应, 取得了很好的成果. 姜黄素也开始应用于肿瘤的临床治疗及预防, 如焦广宇等[10]取得了较好的辅助治疗效果. Park等[11]也发现姜黄素具有很好的防癌作用. 本研究探讨了5.0 μmol/L光敏化姜黄素对人胃癌MGC-803细胞的影响, 表明光敏化作用促进姜黄素抑制胃癌MGC-803细胞的增殖, 促进其凋亡, 具有显著的光毒效应. 激光共聚焦显微镜分辨率高、能断层扫描细胞内部结构及观察三维图像, 广泛应用于生物医学领域, 如细胞骨架的研究. 标记有荧光的特异性抗体与亚细胞结构(如细胞膜、线粒体、溶酶体、核膜)结合, 可出现破裂、萎缩、变形等结构变化, 从而确定其作用的靶点[12].

本研究应用激光共聚焦显微镜观察有荧光的姜黄素在胃癌细胞内各层面的光学切片图像, 发现姜黄素主要分布在细胞质膜、核膜, 散在分布于其他细胞结构, 细胞核分布较少. 与国内的研究类似, 戴维德也研究了肺癌细胞内HMME的分布, 认为细胞核周围的细胞质是分布的主要位点, 细胞核较少分布[13]. 郑景存等[14]认为叶绿素衍生物在人膀胱癌细胞主要分布于细胞核周围, 细胞浆内. 我们推测细胞质膜可能是姜黄素在人胃癌MGC-803细胞内首先分布的位点, 其次可能分布到核膜、线粒体或溶酶体. 当聚集于线粒体时, 通过损伤线粒体迅速启动凋亡机制杀伤细胞. 如进入溶酶体时, 可导致溶酶体破裂, 释放出水解酶导致细胞坏死. 光敏剂在细胞内的分布及定位决定了光动力学作用最初损害的位置. 近距离的接触对产生光动力学作用的ROS的能量转移很重要. 汲振余等[15]认为决定定位的因素还与光敏剂的亲脂性、电荷、浓度等理化性质有关, 一般来说, 脂溶性光敏剂易结合到质膜和线粒体膜, 而水溶性光敏剂则主要位于溶酶体和肿瘤间质. 低浓度时主要定位于线粒体, 高浓度时也定位于溶酶体. 具体的定位还有待进一步实验的研究. 尤其是特异性免疫探针染料如经标记的线粒体、蛋白、膜抗体、受体、细胞骨架等定位及定量、空间分布及病变细胞动态观察方面的研究还不足.

总之, 光敏化进一步增强了姜黄素诱导人胃癌MGC-803细胞的凋亡, 我们认为光敏化姜黄素主要分布于细胞质膜和核膜, 其PDT作用还可能与损坏线粒体和溶酶体, 造成细胞的凋亡和坏死有关. 其他凋亡的机制还有待进一步研究.

志谢: 衷心感谢华南师范大学生命激光研究所魏华江教授及广东药学院心血管病研究所亓翠玲教授等的热心指导和帮助.

■应用要点

中药姜黄素具有药源广、提取工艺简单、价格低廉的优点, 且姜黄素的无毒性、少不良反应是目前临床所有光敏剂缺乏的优点, 姜黄素本身具有一定的抗癌作用, 能一定程度抑制癌细胞生长, 本研究证实姜黄素本身具有的抗癌作用和其PDT效应产生杀灭癌细胞的叠加效果, 进一步拓展姜黄素的药用价值和开发利用.

4 参考文献

1 旷焱平, 陈垦, 何博华, 王林静, 祝爱珍, 刘成成, 刘革修. 光敏化促进姜黄素诱导人胃癌MGC-803细胞凋亡. 中国病理生理杂志 2012; 28: 1247-1252

2 Moragoda L, Jaszewski R, Majumdar AP. Curcumin induced modulation of cell cycle and apoptosis in gastric and colon cancer cells. *Anticancer Res* 2001; 21: 873-878 [PMID: 11396178]

3 Link A, Balaguer F, Shen Y, Lozano JJ, Leung HC, Boland CR, Goel A. Curcumin modulates DNA methylation in colorectal cancer cells. *PLoS One* 2013; 8: e57709 [PMID: 23460897 DOI: 10.1371/journal.pone.0057709]

4 Bush JA, Cheung KJ, Li G. Curcumin induces apoptosis in human melanoma cells through a Fas receptor/caspase-8 pathway independent of p53. *Exp Cell Res* 2001; 271: 305-314 [PMID: 11716543]

5 Wei X, Zhou D, Wang H, Ding N, Cui XX, Wang H, Verano M, Zhang K, Conney AH, Zheng X, DU ZY. Effects of Pyridine Analogs of Curcumin on Growth, Apoptosis and NF-κB Activity in Prostate Cancer PC-3 Cells. *Anticancer Res* 2013; 33: 1343-1350 [PMID: 23564771]

6 Cheng TS, Chen WC, Lin YY, Tsai CH, Liao CI, Shyu HY, Ko CJ, Tzeng SF, Huang CY, Yang PC, Hsiao PW, Lee MS. Curcumin-targeting pericellular serine protease matriptase role in suppression of prostate cancer cell invasion, tumor growth, and metastasis. *Cancer Prev Res* (Phila) 2013; 6: 495-505 [PMID: 23466486]

7 Du Q, Hu B, An HM, Shen KP, Xu L, Deng S, Wei MM. Synergistic anticancer effects of curcumin and resveratrol in Hepa1-6 hepatocellular carcinoma cells. *Oncol Rep* 2013; 29: 1851-1858 [PMID: 23446753]

8 Masuelli L, Benvenuto M, Fantini M, Marzocchella L, Sacchetti P, Di Stefano E, Tresoldi I, Izzi V, Ber-

■同行评价
光动力学治疗是一种能诱导细胞凋亡和坏死的细胞毒性治疗方法, 主要因素包括光敏剂、可见光及氧分子. 光敏剂吸收能量后产生对细胞有不良作用的活性氧, 其中光敏剂是决定PDT效应的关键因素之一. 姜黄素已在基础研究中显示出其光敏效应强、毒性低、用量低等优点, 具有很好的应用前景.

nardini R, Palumbo C, Mattei M, Lista F, Galvano F, Modesti A, Bei R. Curcumin induces apoptosis in breast cancer cell lines and delays the growth of mammary tumors in neu transgenic mice. *J Biol Regul Homeost Agents* 2013; 27: 105-119 [PMID: 23489691]
9 Zhang CY, Zhang L, Yu HX, Bao JD, Sun Z, Lu RR. Curcumin inhibits invasion and metastasis in K1 papillary thyroid cancer cells. *Food Chem* 2013; 139: 1021-1028 [PMID: 23561205]
10 焦广宇, 周春凌, 徐桂强, 陈炳卿, 孙长景. 姜黄素、叶绿素辅助治疗胃癌的临床研究. 营养学报 2001; 23: 237-238
11 Park W, Amin AR, Chen ZG, Shin DM. New perspectives of curcumin in cancer prevention. *Cancer Prev Res* (Phila) 2013; 6: 387-400 [PMID: 23466484]
12 于彦华, 刑达. 激光共焦扫描显微镜及其在生物医学中的应用. 四川激光 1996; 20: 35-38
13 戴维德, 王雷, 刘凡光. 超高灵敏荧光显微成像技术对光敏剂细胞内分布的初步研究. 激光生物学报 2003; 12: 435-439
14 郑景存, 赵鸿, 陈波, 吴忠, 丁强, 张元芳. 应用激光共聚焦显微镜研究光敏剂CDHS801亚细胞定位. 中华实验外科杂志 2005; 33: 355-356
15 汲振余, 禹丽娜, 杨观瑞. 肿瘤光动力学疗法的机制. 世界华人消化杂志 2005; 13: 1879-1884

编辑 田滢 电编 闫晋利

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

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873

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

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

世界华人消化杂志 2013年6月8日; 21(16): 1527-1532
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

环巴胺对胃癌MKN45细胞株*VEGF*、*MMP-2*、*MMP-9*基因表达的影响

任雪萍, 张全安, 郑 勤

任雪萍, 张全安, 郑勤, 东南大学附属南京第二医院肿瘤科 江苏省南京市 210003
任雪萍, 主要从事肿瘤的相关研究.
作者贡献分布: 此课题由任雪萍、张全安及郑勤设计; 研究过程由任雪萍操作完成; 数据分析由任雪萍与张全安完成; 论文写作由任雪萍完成.
通讯作者: 张全安, 主任医师, 210003, 江苏省南京市鼓楼区钟阜路1-1号, 东南大学附属南京第二医院肿瘤科.
cancerarticle@163.com
电话: 025-83626483
收稿日期: 2013-04-11 修回日期: 2013-04-22
接受日期: 2013-04-27 在线出版日期: 2013-06-08

Effect of cyclopamine on expression of *VEGF*, *MMP-2* and *MMP-9* in gastric cancer cell line MKN45

Xue-Ping Ren, Quan-An Zhang, Qin Zheng

Xue-Ping Ren, Quan-An Zhang, Qin Zheng, Department of Oncology, the Second Hospital of Nanjing Affiliated to Southeast University, Nanjing 210003, Jiangsu Province, China
Correspondence to: Quan-An Zhang, Chief Physician, Department of Oncology, the Second Hospital of Nanjing Affiliated to Southeast University, 1-1 Zhongfu Road, Gulou District, Nanjing 210003, Jiangsu Province, China. cancerarticle@163.com
Received: 2013-04-11 Revised: 2013-04-22
Accepted: 2013-04-27 Published online: 2013-06-08

Abstract

AIM: To investigate the effect of cyclopamine on cell apoptosis and expression of vascular endothelial growth factor (VEGF), matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in gastric cancer cell line MKN45.

METHODS: After MKN45 cells were treated with different concentrations of cyclopamine (7.5, 15, 30, 60, 90, 120 μmol/L) for different durations, cell proliferation was assessed by MTT assay, cell apoptosis and cell cycle progression were determined by flow cytometry, and expression of *VEGF*, *MMP-2* and *MMP-9* mRNAs was detected by RT-PCR.

RESULTS: Cyclopamine inhibited the growth of MKN45 cells in a time- and dose-dependent manner. The apoptosis rates of MKN45 cells treated with 30, 60, 90 μmol/L of cyclopamine for 24 h were significantly higher than that of non-treated cells (18.45% ± 0.57%, 39.77% ± 0.61%, 68.52% ± 0.89% *vs* 2.08% ± 0.49%, all $P < 0.05$). The percentage of cells in G_0/G_1 phase was increased while that in S phase was decreased in cyclopamine-treated cells, and cell cycle was arrested in G_0/G_1 phase. Treatment with cyclopamine for 24 h decreased the expression levels of *VEGF*, *MMP-2* and *MMP-9* mRNA in a dose-dependent manner (all $P < 0.05$).

CONCLUSION: Cyclopamine inhibits cell proliferation and induces apoptosis in gastric cancer cell line MKN45 via mechanisms possibly associated with down-regulating the expression of tumor invasion-related genes *VEGF*, *MMP-2* and *MMP-9*.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Cyclopamine; Gastric cancer; Apoptosis; vascular endothelial growth factor; MMP-2; MMP-9

Ren XP, Zhang QA, Zheng Q. Effect of cyclopamine on expression of *VEGF*, *MMP-2* and *MMP-9* in gastric cancer cell line MKN45. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(16): 1527-1532 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1527.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1527

摘要

目的: 研究环巴胺诱导胃癌MKN45细胞凋亡的作用及其对血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2)和基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)表达的影响.

方法: 以胃癌MKN45细胞为研究对象, MTT法检测不同浓度环巴胺作用不同时间对MKN45细胞的增殖抑制作用. 应用流式细胞仪测定细胞凋亡率及细胞周期分布. RT-

■**背景资料**
胃癌是最常见的消化系恶性肿瘤之一, 其预后与肿瘤分化程度、浸润深度、病理分期、淋巴结转移及远处转移等密切相关. 目前胃癌治疗效果差, 在治疗过程中常出现耐药、复发和转移, 因此寻找高效低毒的药物成为目前研究的热点.

■**同行评议者**
李革, 副教授, 延边大学附属医院

■研发前沿
多数胃癌患者确诊时为晚期，药物治疗是胃癌治疗的基础. 环巴胺是一种藜芦属类固醇植物碱，研究发现其在多种肿瘤细胞中发挥抗肿瘤的作用，环巴胺作为一种潜在的抗肿瘤新药在世界范围内掀起了研究热潮.

PCR检测环巴胺对*VEGF*、*MMP-2*、*MMP-9* mRNA表达的影响.

结果: 不同浓度(7.5、15、30、60、90、120 μmol/L)的环巴胺对人胃癌MKN45细胞均有增殖抑制作用，且呈时间和剂量依赖性. 30、60、90 μmol/L环巴胺作用MKN45细胞24 h后凋亡率分别为18.45%±0.57%、39.77%±0.61%、68.52%±0.89%，明显高于阴性对照组的细胞凋亡率2.08%±0.49%，差异具有统计学意义(P<0.05). 细胞周期分析显示，随着环巴胺浓度升高，G_0/G_1期细胞比例逐渐增多，S期细胞比例逐渐减少，细胞发生G_0/G_1期阻滞(P<0.05). RT-PCR检测显示环巴胺作用24 h后，*VEGF*、*MMP-2*、*MMP-9* mRNA的表达明显下降，且随着药物浓度的增高表达量逐渐减少(P<0.05).

结论: 环巴胺对胃癌细胞MKN45具有明显的增殖抑制及促凋亡作用，其机制可能与下调肿瘤侵袭转移相关基因*VEGF*、*MMP-2*、*MMP-9*的表达有关.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 环巴胺; 胃癌; 细胞凋亡; 血管内皮细胞生长因子; 基质金属蛋白酶-2; 基质金属蛋白酶-9

核心提示: 本研究显示环巴胺对胃癌细胞有抗肿瘤作用，其机制可能与血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor)、基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase-2)和基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9)的表达有关，为胃癌的药物治疗提供新思路，为环巴胺的临床应用提供理论依据.

任雪萍，张全安，郑勤. 环巴胺对胃癌MKN45细胞株*VEGF*、*MMP-2*、*MMP-9*基因表达的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(16): 1527-1532 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1527.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1527

0 引言

胃癌是我国最常见的消化系恶性肿瘤之一，胃癌细胞的侵袭和转移是抗肿瘤治疗失败的重要原因，血管新生及细胞外基质降解是肿瘤侵袭转移的重要环节[1]. 参与肿瘤血管生成的因子很多，其中血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是迄今为止发现的作用最强的促血管生长因子[2]. 基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2)和基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)是基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMPs)家族中的重要成员，能有效降解基底细胞膜及细胞外基质(extracellular matrix, ECM)[3]. 本实验旨在观察环巴胺对胃癌MKN45细胞株的生长抑制作用及其对*VEGF*、*MMP-2*、*MMP-9*基因表达的影响，探讨其可能的作用机制，为环巴胺的临床应用提供理论依据.

1 材料和方法

1.1 材料 胃癌MKN45细胞株由中国科学院上海细胞生物学研究所细胞库提供. 环巴胺(cyclopamine)购自Biomol公司产品; RPMI 1640培养基、胎牛血清购自杭州四季青有限公司; 四甲基偶氮唑盐(methyl thiazolyl tetrazolium, MTT)、二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)购自美国Sigma公司; Annexin V/PI凋亡试剂盒、细胞周期试剂盒均购自南京凯基生物科技发展有限公司; TRIzol试剂盒购自Invitrogen公司; RT-PCR试剂盒购自宝生物工程大连有限公司; *VEGF*、*MMP-2*、*MMP-9*基因引物由上海生工生物工程公司合成.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: 胃癌MKN45细胞用含100 U/mL青霉素、100 μg/mL链霉素、10%胎牛血清的RPMI 1640培养液，在37 ℃、5%饱和湿度条件下培养，1-2 d更换培养液1次，每2-3 d传代一次，实验时选用对数生长期细胞.

1.2.2 MTT法测定细胞增殖抑制率: 取对数生长期MKN45细胞，用胰酶消化制成单细胞悬液，调整细胞浓度为1×10^5/mL，接种于96孔板，每孔200 μL. 分为实验组、空白对照组及阴性对照组，实验组加入终浓度为7.5、15、30、60、90、120 μmol/L的环巴胺，空白对照组不含细胞仅加入培养液，阴性对照组含有细胞并加入等量溶剂; 每组设6个复孔. 分别于加药后24、48和72 h检测，每孔加入MTT溶液(5 mg/mL)20 μL; 继续孵育4 h，离心、弃上清液，每孔加入150 μL DMSO，摇床混匀充分溶解颗粒; 酶联检测仪于波长540 nm处测定吸光度(A)值. 实验重复3次，取平均值.

1.2.3 流式细胞术测定细胞凋亡率: 取对数生长期细胞，以每孔5×10^6个细胞接种于六孔培养板，细胞贴壁生长后，加入终浓度分别为30、60、90 μmol/L的环巴胺，培养24 h后，收集各组

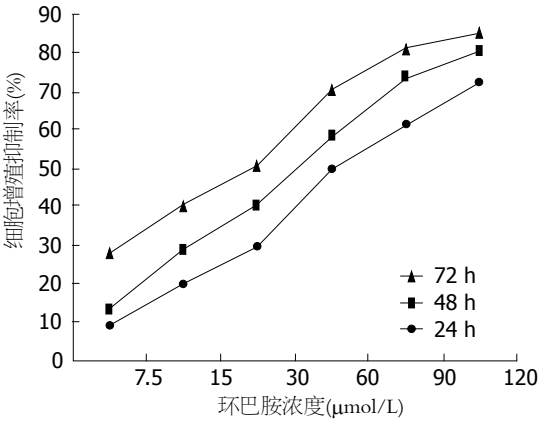


图 1 不同浓度环巴胺作用不同时间对胃癌MKN45细胞增殖的影响.

细胞, 调整细胞浓度为1×10^6/mL, 取100 μL悬液, 加入5 μL AnnexinV-FITC和10 μL PI, 避光反应15 min, 加入300 μL 1×Annexin-V缓冲液, 流式细胞仪测定细胞凋亡率.

1.2.4 流式细胞术检测细胞周期: 取对数生长期的细胞, 接种于100 mL培养瓶, 培养24 h后, 加入终浓度为30、60、90 μmol/L的环巴胺, 另设阴性对照组, 孵育24 h后, 胰酶消化收集各组细胞, 4 ℃ PBS洗涤2次. 离心后加入预冷的70%乙醇, 固定过夜, 冷PBS洗涤后, 加入RNase和PI, 避光染色30 min, 流式细胞仪分析细胞周期分布. 实验重复3次.

1.2.5 RT-PCR检测*VEGF*、*MMP-2*、*MMP-9* mRNA表达: 收集30、60、90 μmol/L环巴胺作用24 h后的MKN45细胞, TRIzol法提取总RNA, 逆转录成cDNA, 进行PCR扩增. β-actin: 上游引物为5'-CCAACTAATGTTCAGCGTTA-3', 下游引物5'-TACGATGATAGGAATGGTTG-3', 扩增片段400 bp; *VEGF*: 上游引物5'-ACTTTCTGCTGTCTTGGATG-3', 下游引物5'-CTCGGCTTGTCACATCACCG-3', 扩增片段227 bp; *MMP-2*: 上游引物5'-CTTCCTTCAAGGACCGGTAG-3', 下游引物5'-GTCTGGCTTGGGGTAGGCTA-3', 扩增片段606 bp; *MMP-9*: 上游引物5'-TGGGAACCAGCTGTGCGGAT-3', 下游引物5'-CGTGTGTACACCCA AGACGC-3', 扩增片段325 bp. PCR反应条件如下: 94 ℃预变性5 min, 随后94 ℃变性30 s, 60 ℃退火30 s, 72 ℃延伸10 min, 共30个循环. PCR产物行琼脂糖凝胶电泳, 利用凝胶成像系统扫描、拍照, 分析数据. 实验重复3次. 以β-actin作为内参照, 计算*VEGF*、*MMP-2*、*MMP-9* mRNA的相对表达量.

统计学处理 所得数据采用SPSS13.0软件包进行统计分析. 计量资料以mean±SD表示. 多样本比较采用单因素方差分析; 组间比较采用*t*检验. $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 环巴胺对MKN45细胞的增殖抑制作用 不同浓度(7.5、15、30、60、90、120 μmol/L)的环巴胺作用于MNK45细胞24、48、72 h后, MKN45细胞的生长均受到不同程度抑制, 随着药物浓度的升高及作用时间的延长, 细胞增殖抑制作用逐渐增强, 其增殖抑制率与药物浓度和作用时间呈正相关($P<0.05$, 图1).

2.2 环巴胺对MKN45细胞凋亡的影响 经30、60、90 μmol/L的环巴胺作用24 h后, MKN45细胞的凋亡率分别为18.45%±0.57%、39.77%±0.61%、68.52%±0.89%, 明显高于阴性对照组的细胞凋亡率2.08%±0.49%, 差异具有统计学意义($P<0.05$). 且随着环巴胺药物浓度的逐渐升高, 细胞凋亡率亦逐渐增加, 各浓度组间比较差异有统计学意义($P<0.05$).

2.3 环巴胺对MKN45细胞周期的影响 不同浓度环巴胺作用24 h后细胞周期受到不同程度的影响, 与阴性对照组比较, 环巴胺组G_0/G_1期比例明显增高, S期细胞比例下降, 且随着药物浓度的增加, G_0/G_1期细胞比例逐渐升高, S期细胞比例逐渐减少, 细胞发生G_0/G_1期阻滞, 各组间差异具有统计学意义($P<0.05$, 表1).

2.4 环巴胺对MKN45细胞*VEGF*、*MMP-2*、*MMP-9* mRNA的表达的影响 RT-PCR结果显示, 空白对照组及阴性对照组的基因表达水平无显著差异, 而不同浓度的环巴胺处理胃癌MKN45细胞24 h后, 细胞内*VEGF*、*MMP-2*、*MMP-7* mRNA的表达明显下降, 与空白对照组及阴性对照组相比, 差异具有统计学意义($P<0.05$), 且随着环巴胺药物浓度的增加, 各基因的表达量逐渐减少, 各浓度组间差异亦有统计学意义($P<0.05$, 图2-4).

3 讨论

胃癌的发生发展是一个多因素、多步骤的复杂过程, 其预后与分化程度、浸润深度、病理分期、淋巴结转移及远处转移等密切相关[4,5]. 目前胃癌治疗效果差, 且在治疗过程中常出现耐药、复发和转移. 环巴胺是一种藜芦属类固醇植物碱, 并在多种肿瘤细胞中发挥抗肿瘤作用,

■相关报道

Zheng等研究发现, 在胃癌组织中*VEGF*、*MMP-2*和*MMP-9*的表达与肿瘤的大小、深度浸润、淋巴和静脉浸润、淋巴结转移和UICC分期呈正相关, MMP-2、MMP-9和VEGF在很大程度上促进胃癌血管生成和胃癌进展, 是胃癌不良预后因素.

■创新盛点

目前关于环巴胺的抗肿瘤作用机制尚未明确. 本研究发现环巴胺对胃癌细胞MKN45具有明显的增殖抑制及促凋亡作用, 其机制可能与下调肿瘤侵袭转移相关基因*VEGF*、*MMP-2*、*MMP-9*的表达有关.

表 1 不同浓度环巴胺作用24 h后MKN45细胞周期分布 (mean ± SD, *n* = 3, %)

环巴胺(μmol/L)	G_0/G_1期	S期	G_2/M期
0	57.71 ± 1.35	26.13 ± 0.98	16.16 ± 0.44
30	66.76 ± 1.45[a]	17.86 ± 2.55[a]	15.38 ± 3.08
60	76.54 ± 1.49[ab]	12.32 ± 1.88[ab]	11.14 ± 1.03[ab]
90	84.32 ± 1.66[abc]	7.91 ± 1.35[abc]	7.77 ± 1.87[abc]

[a]*P*<0.05 *vs* 0 μmol//L组; [b]*P*<0.01 *vs* 30 μmol//L组; [c]*P*<0.05 *vs* 60 μmol//L组.

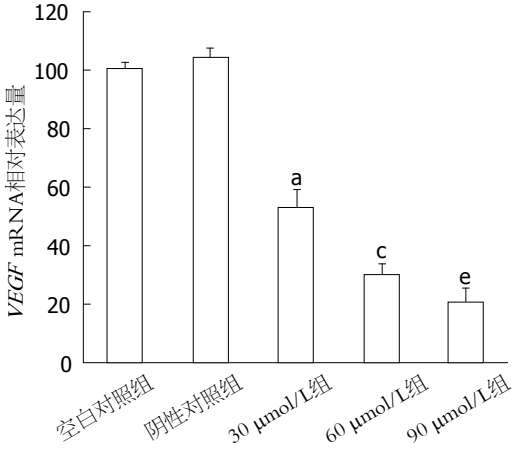


图 2 不同浓度环巴胺对MKN45细胞*VEGF* mRNA表达的影响. [a]*P*<0.05 *vs* 空白对照组, 阴性对照组; [c]*P*<0.05 *vs* 30 μmol//L组; [e]*P*<0.05 *vs* 60 μmol/L组.

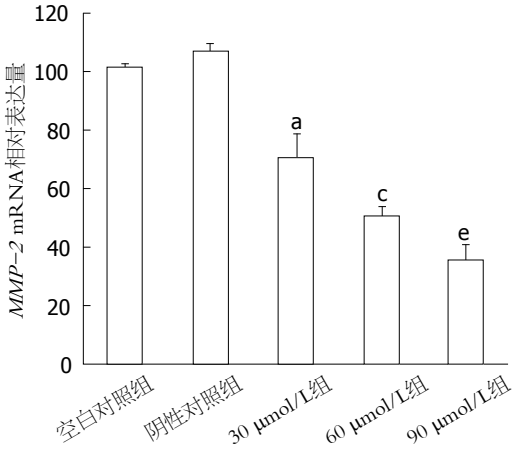


图 3 不同浓度环巴胺对MKN45细胞*MMP-2* mRNA表达的影响. [a]*P*<0.05 *vs* 空白对照组, 阴性对照组; [c]*P*<0.05 *vs* 30 μmol//L组; [e]*P*<0.05 *vs* 60 μmol/L组.

但对其研究大多集中在Hedgehog信号通路[6-8], 关于其他方面的研究较少, 其是否通过其他途径发挥抗肿瘤作用尚不明确.

MKN45细胞为低分化细胞株, 恶性程度高, 本研究我们用环巴胺对MKN45进行干预, MTT结果显示环巴胺对胃癌MKN45细胞具有明显的增殖抑制作用. 环巴胺作用于胃癌MKN45细胞

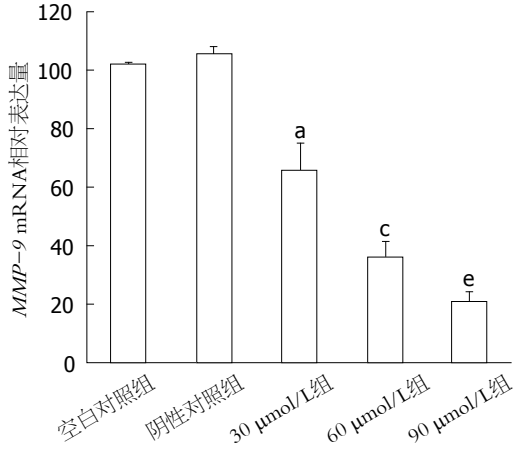


图 4 不同浓度环巴胺对MKN45细胞*MMP-9* mRNA表达的影响. [a]*P*<0.05 *vs* 空白对照组, 阴性对照组; [c]*P*<0.05 *vs* 30 μmol//L组; [e]*P*<0.05 *vs* 60 μmol/L组.

24 h后细胞凋亡率显著升高, 与对照组比较, 差异有统计学意义. 细胞周期分析显示环巴胺使MKN45细胞增殖阻滞于G_0/G_1期.

肿瘤细胞的侵袭转移是一个复杂的过程, 其中包括肿瘤血管新生、细胞外基质降解、细胞增殖改变、细胞黏附改变及细胞迁移等环节[9,10]. 肿瘤血管新生与肿瘤的生长、浸润和转移密切相关, 是肿瘤侵袭转移的必要条件[11,12]. 参与肿瘤血管生成的因子很多, 其中VEGF是迄今为止发现的作用最强、最重要的促血管生长因子. VEGF能特异性地促进血管内皮细胞增殖、分化和迁移, 趋化肿瘤细胞, 诱导肿瘤血管生成, 促进肿瘤生长、侵袭及转移[13,14]. Zhao等[15]采用免疫组织化学法检测107例胃癌组织和31例癌旁正常胃组织, 结果表明, VEGF在正常胃组织中呈低表达或无表达, 在胃癌组织中呈高表达, 且表达水平与肿瘤大小、浸润深度、淋巴结转移和病理分期呈正相关. Liu等[16]进行的一项荟萃分析包括44项研究, 共计4794例胃癌根治术患者, 结果显示, 对于胃癌根治术后患者, VEGF阳性者比阴性者生存率低, 同时VEGF阳性表达者胃癌肿块大, 易浸润, 更易发生血行转移, 分

期多为进展期, 多因素分析证实VEGF是独立的预后指标.

肿瘤的侵袭转移亦涉及到ECM的破坏, 细胞外基质的降解是肿瘤浸润和转移的先决条件[17]. MMPs是具有锌指结构的蛋白水解酶, 是降解细胞外基质蛋白最主要的蛋白水解酶, 在肿瘤的浸润和转移中发挥着至关重要的作用[18]. MMP-2和MMP-9是*MMPs*家族中的重要成员, 能有效降解基底细胞膜及细胞外基质, 促进血管内皮细胞迁移及血管重塑, 并能上调VEGF, 促进肿瘤血管新生, 是启动血管生成的重要因子[19]. Hwang等[20]采用免疫组织化学法检测189例胃癌组织中MMP-2和MMP-9的表达水平, 并分析其与肿瘤的浸润、临床病理特征和临床结果的相关性, 结果表明, MMP-2、MMP-9在正常胃组织黏膜及癌旁组织中呈低表达, 在胃癌组织呈高表达, 且阳性表达程度与肿瘤浸润深度、淋巴结转移及TNM分期呈正相关. MMP-2、MMP-9的异常表达在胃癌的发生发展、浸润转移过程中发挥了重要作用, 可作为判断胃癌患者预后的独立指标.

我们进一步研究发现, 不同浓度的环巴胺作用于MKN45细胞24 h后, *VEGF*、*MMP-2*及*MMP-9* mRNA的表达水平下降, 且随着药物浓度增高, 表达量逐渐减少. 环巴胺可能通过抑制*VEGF*、*MMP-2*及*MMP-9*的基因表达, 进而减少肿瘤浸润转移, 从而发挥抗肿瘤作用.

总之, 本研究结果表明环巴胺可抑制MKN45细胞的增殖, 并诱导其凋亡, 其机制可能与阻滞细胞周期于G_0/G_1期以及下调细胞中*VEGF*、*MMP-2*及*MMP-9*基因的表达有关, 为胃癌患者的治疗提供新的途径及理论依据.

4 参考文献

1 Corso G, Seruca R, Roviello F. Gastric cancer carcinogenesis and tumor progression. *Ann Ital Chir* 2012; 83: 172-176 [PMID: 22595727]

2 Pradeep CR, Sunila ES, Kuttan G. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF receptors in tumor angiogenesis and malignancies. *Integr Cancer Ther* 2005; 4: 315-321 [PMID: 16282508 DOI: 10.1177/1534735405282557]

3 Curran S, Murray GI. Matrix metalloproteinases: molecular aspects of their roles in tumour invasion and metastasis. *Eur J Cancer* 2000; 36: 1621-1630 [PMID: 10959048 DOI: 10.1016/S0959-8049(00)00156-8]

4 Ayadi S, Daghfous A, Makni A, Fteriche F, Maghrebi H, Rebai W, Bedioui H, Chebbi F, Ksantini R, Ammous A, Jouini M, Kacem M, Ben Safta Z. Prognostic factors in gastric carcinoma after R0 resection with DII lymph node dissection. Tunisian experience. *Tunis Med* 2012; 90: 812-815 [PMID: 23197061]

5 Yang X, Takano Y, Zheng HC. The pathobiological features of gastrointestinal cancers (Review). *Oncol Lett* 2012; 3: 961-969 [PMID: 22783373 DOI: 10.3892/ol.2012.628]

6 Gould A, Missailidis S. Targeting the hedgehog pathway: the development of cyclopamine and the development of anti-cancer drugs targeting the hedgehog pathway. *Mini Rev Med Chem* 2011; 11: 200-213 [PMID: 21222574 DOI: 10.2174/138955711795049871]

7 Sheikh A, Alvi AA, Aslam HM, Haseeb A. Hedgehog pathway inhibitors - current status and future prospects. *Infect Agent Cancer* 2012; 7: 29 [PMID: 23116301 DOI: 10.1186/1750-9378-7-29]

8 Wu X, Cai ZD, Lou LM, Chen ZR. The effects of inhibiting hedgehog signaling pathways by using specific antagonist cyclopamine on the chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *Int J Mol Sci* 2013; 14: 5966-5977 [PMID: 23493060 DOI: 10.3390/ijms14035966]

9 Nasr Z, Pelletier J. Tumor progression and metastasis: role of translational deregulation. *Anticancer Res* 2012; 32: 3077-3084 [PMID: 22843876]

10 Steeg PS. Tumor metastasis: mechanistic insights and clinical challenges. *Nat Med* 2006; 12: 895-904 [PMID: 16892035 DOI: 10.1038/nm1469]

11 Robert J. Biology of cancer metastasis. *Bull Cancer* 2013; 100: 333-342 [PMID: 23587644 DOI: 10.1684/bdc.2013.1724]

12 Gretschel S, Astrosini Ch, Vieth M, Jöns T, Tomov T, Höcker M, Schlag PM, Kemmner W. Markers of tumour angiogenesis and tumour cells in bone marrow in gastric cancer patients. *Eur J Surg Oncol* 2008; 34: 642-647 [PMID: 18023552 DOI: 10.1016/j.ejso.2007.09.010]

13 Roskoski R. Vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling in tumor progression. *Crit Rev Oncol Hematol* 2007; 62: 179-213 [PMID: 17324579 DOI: 10.1016/j.critrevonc.2007.01.006]

14 Wang X, Chen X, Fang J, Yang C. Overexpression of both VEGF-A and VEGF-C in gastric cancer correlates with prognosis, and silencing of both is effective to inhibit cancer growth. *Int J Clin Exp Pathol* 2013; 6: 586-597 [PMID: 23573305]

15 Zhao ZQ, Yang S, Lu HS. Expression of midkine and vascular endothelial growth factor in gastric cancer and the association of high levels with poor prognosis and survival. *Mol Med Rep* 2012; 5: 415-419 [PMID: 22051879 DOI: 10.3892/mmr.2011.649]

16 Liu L, Ma XL, Xiao ZL, Li M, Cheng SH, Wei YQ. Prognostic value of vascular endothelial growth factor expression in resected gastric cancer. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 3089-3097 [PMID: 22994715 DOI: 10.7314/APJCP.2012.13.7.3089]

17 Pathak A, Kumar S. Independent regulation of tumor cell migration by matrix stiffness and confinement. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; 109: 10334-10339 [PMID: 22689955 DOI: 10.1073/pnas.1118073109]

18 Lukaszewicz-Zając M, Mroczko B, Szmitkowski M. Gastric cancer - The role of matrix metalloproteinases in tumor progression. *Clin Chim Acta* 2011; 412: 1725-1730 [PMID: 21693112 DOI: 10.1016/

■同行评价

本文研究环巴胺诱导胃癌MKN45细胞调亡的作用及其对*VEGF*、*MMP-2*、*MMP-9*基因表达的影响, 有一定的创新性, 条理清晰, 结论可靠, 有科学意义和学术价值.

j.cca.2011.06.003]
19 Zheng H, Takahashi H, Murai Y, Cui Z, Nomoto K, Niwa H, Tsuneyama K, Takano Y. Expressions of MMP-2, MMP-9 and VEGF are closely linked to growth, invasion, metastasis and angiogenesis of gastric carcinoma. *Anticancer Res* 2006; 26: 3579-3583 [PMID: 17094486]
20 Hwang TL, Lee LY, Wang CC, Liang Y, Huang SF, Wu CM. Claudin-4 expression is associated with tumor invasion, MMP-2 and MMP-9 expression in gastric cancer. *Exp Ther Med* 2010; 1: 789-797 [PMID: 22993603 DOI: 10.3892/etm.2010.116]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

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

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

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

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

世界华人消化杂志 2013年6月8日; 21(16): 1533-1538
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

转录因子在食管鳞癌基因表达中的调控作用

吴耀松, 陈玉龙, 尹素改, 王慧慧

吴耀松, 陈玉龙, 尹素改, 王慧慧, 河南中医学院 河南省郑州市 450008
吴耀松, 主要从事肿瘤分子生物学的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81173177
河南省教育厅自然科学基金资助项目, No. 2010B360004
河南中医学院科技创新人才基金资助项目, No. 2010XCXRC02
作者贡献分布: 吴耀松与陈玉龙对此文所作贡献均等; 课题由陈玉龙设计; 资料收集与数据分析由吴耀松、尹素改及王慧慧完成; 论文撰写由陈玉龙与吴耀松完成.
通讯作者: 陈玉龙, 副教授, 450008, 河南省郑州市金水路1号, 河南中医学院分子生物实验中心. cyl72621@163.com
收稿日期: 2013-03-20 修回日期: 2013-04-20
接受日期: 2013-04-27 在线出版日期: 2013-06-08

Role of transcription factors in regulation of gene expression in esophageal squamous cell carcinoma

Yao-Song Wu, Yu-Long Chen, Su-Gai Yin, Hui-Hui Wang

Yao-Song Wu, Yu-Long Chen, Su-Gai Yin, Hui-Hui Wang, Laboratory of Molecular Biology, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, Henan Province, China
Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 81173177; the Foundation of Education Department of Henan Province, No. 2010B360004; the Science & Technology Innovation Talent Foundation of Henan University of Traditional Chinese Medicine, No. 2010XCXRC02
Correspondence to: Yu-Long Chen, Associate Professor, Laboratory of Molecular Biology, Henan University of Traditional Chinese Medicine, 1 Jinshui Road, Zhengzhou 450008, Henan Province, China. cyl72621@163.com
Received: 2013-03-20 Revised: 2013-04-20
Accepted: 2013-04-27 Published online: 2013-06-08

Abstract

AIM: To study the role of transcription factors (TFs) in regulation of gene expression in esophageal squamous cell cancer.

METHODS: Two gene microarray data sets downloaded from the GEO BRB-ArrayTool were used to analyze differentially expressed genes between esophageal squamous cell cancer and normal esophageal tissue. TFs were enriched from differentially expressed genes, and the regulatory role of TFs was assessed by analyzing interactions among target genes, binding proteins and differentially expressed genes.

RESULTS: Eight TFs were obtained from 463 differentially expressed genes. There were 110 genes that may be regulated by TFs, including target genes, genes encoding interaction proteins, and upstream enzyme genes. These genes participated in multiple biological processes such as cell cycle, mitosis, cell division, cell migration, response to DNA damage, and DNA repair. Of these 110 genes, 37 were involved in KEGG pathways, including cancer pathways, focal adhesion, cell cycle, ECM-receptor interaction, small cell lung cancer, oocyte meiosis, p53 signaling pathway, and fatty acid metabolism. The pathways involving these 110 genes showed no significant difference with those involving the 463 differentially expressed genes. These 110 genes interact and form a molecular network which is composed of 110 nodes and 316 edges.

CONCLUSION: Eight TFs identify in this study constitute a complex molecular interaction network and play an important role in ESCC by regulating their target and interactive genes.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Transcription factors; Gene microarray; Esophageal squamous cell cancer; Molecular network

Wu YS, Chen YL, Yin SG, Wang HH. Role of transcription factors in regulation of gene expression in esophageal squamous cell carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(16): 1533-1538 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1533.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1533

摘要

目的: 研究食管鳞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)中转录因子的调控作用.

方法: 从GEO下载两个基因数据集, 利用BRB-ArrayTool分析食管癌细胞和正常细胞之间差异基因表达. 从差异表达基因中富集出转录因子, 根据转录因子目的基因、结合蛋白和差异基因的相互作用来分析其调控作用.

■背景资料
利用基因芯片技术能够成功地判断出和生存率、组织学分级、浸润状态及对化疗反应等临床参数相关的食管癌亚型, 但目前很少有探究差异基因表达改变的原因和差异表达基因之间的相互联系, 转录因子调控基因转录的重要因子, 不少像GSEA这样的工具为从共表达基因中富集转录因子提供了可能.

■同行评议者
张志坚, 教授, 福州总医院消化内科

■研发前沿
几种方法可以用来整合基因表达数据和其他类型基因组数据以鉴定转录因子靶基因, 其中GRAM、ReMO Discovery和COGRIM就是整合基因表达、ChIP-chip和motif数据寻找基因调控模块的方法.

结果: 根据463个差异表达基因富集了8个转录因子, 差异基因中含此8个转录因子的110个调控基因, 包括靶基因、和靶基因相互作用基因及其上游的酶基因. 这些基因参与了许多的生物过程, 如细胞周期、有丝分裂、细胞分离、细胞转移、DNA的损伤反应和DNA的修复. 其中37个基因参与了KEGG信号通路, 包括癌化途径、黏着斑、细胞周期、细胞外基质受体相互作用、小细胞肺癌、卵母细胞减数分裂、P53信号通路和脂肪酸代谢通路等. 这110个基因和463个差异表达基因参与的信号通路没有明显的差异. 这110个基因相互作用, 形成有110个节点和316条边组成分子网路.

结论: 在ESCC中, 8个转录因子通过调控其靶基因和相互作用基因而发挥重要作用, 其调控基因组成一个复杂的相互作用分子网络.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 转录因子; 基因芯片; 食管癌; 分子网络

核心提示: 分析食管鳞癌(esophageal squamous cell carcinoma)细胞和正常细胞之间463个差异基因表达, 富集了8个转录因子及110个调控基因, 这些基因参与了许多的重要生物过程, 形成有110个节点和316条边组成分子网路.

吴耀松, 陈玉龙, 尹素改, 王慧慧. 转录因子在食管鳞癌基因表达中的调控作用. 世界华人消化杂志 2013; 21(16): 1533-1538
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1533.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1533

0 引言

食管癌是世界范围内第6大最常见而致命的肿瘤, 其中95%的患者属食管鳞癌[1,2]. 食管鳞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)是一种恶性肿瘤, 只有在出现症状以后才易诊断, 预后性很差. 为了减少ESCC的死亡率, 许多科学家通过各种技术手段包括cDNA芯片分析技术试图找到一些能进行早期诊断的生物标志物. 利用基因芯片技术能够成功地判断出和生存率、组织学分级、浸润状态及对化疗反应等临床参数相关的食管癌亚型[3,4], 但这些研究大部分都只关注不同ESCC亚型中基因表达的改变或单个差异基因功能, 很少探究这些基因表达改变的原因和差异表达基因之间的相互联系.

许多因素影响基因的表达, 转录因子是其中一种主要的调控因子, 他与基因启动子结合, 调控基因的表达. 不少像基因探针富集分析(gene set enrichment analysis, GSEA)这样的工具为从共表达基因中富集转录因子提供了可能[5-7], 由此, 我们可以通过差异表达基因列表非直接鉴定出激活的转录因子, 从而阐述基因表达发生改变的机理. 本文目的是寻找调控ESCC基因表达的转录因子, 并构建转录因子调控的分子网络.

1 材料和方法

1.1 材料 从GEO下载GSE20347和GSE17351数据集. GSE20347包括34人样本, GSE17351包括了10人样本, 皆为ESCC组织和正常组织配对, 为Affymetrix Human Genome U133 Plus 2.0 Array平台, 该平台包含47000多个转录子和变异体, 涵盖了38500个已经定性清楚的人类基因.

1.2 方法 BRB-ArrayTools 4.2软件有Dr. Richard Simon和Amy Peng Lam所建立, 本研究利用此软件对数据进行挖掘. 首先排除相对表达基因中位数任一方向(高于、低于)>1.5倍不到整个芯片数20%的基因数据, 或缺失值超过50%样本的基因数据. 从GSE20347鉴定出肿瘤和正常组织间差异mRNA, 他们必须满足3个统计条件: (1)P<0.001; (2)P<0.001, FDR<0.05; (3)2<正常/癌组织的比值<0.5. 然后, 以GSE2034中筛选出的差异基因作为背景, 应用BRB-Array Tools 4.2软件预测工具中Support Vector Machine and Bayesian Compound Covariate预测器从GSE17351数据集筛选出差异基因, 这样被筛选出的基因认为是ESCC真正相关基因.

利用网上在线的工具(www.tfacts.org), Essaghir A法[8]分析这些基因的转录子. 从HPRD、IntAct、DIP数据库中[9-11]寻找转录子相互作用蛋白. 同时, 从HPRD中寻找转录子上游酶类分子. 在下面的分析中, 主要对真正相关基因和其相互作用蛋白进行分析.

利用在线的DAVID工具http://david.abcc.ncifcrf.gov/, 分析转录子靶基因和相互作用的蛋白的本体功能和信号通路. 利用STRINGhttp://string.embl.de和 PSTINGhttp://pstiing.licr.org/search/a_start_batch.jsp在线分析目标基因的相互作用. 用Cytoscape[12]做出相应的网络图形.

2 结果

2.1 食管鳞癌相关的基因数量 在GSE20347数据库中, 有1552个差异探针代表1195基因. 以1195个基因为背景, 通过Support Vector Machine and

Bayesian Compound Covariate(P<0.01)预测器, 从GSE17351筛选出463个ESCC相关基因, 其中包括了259个上调基因和204个下调基因, 这些基因能够成功地将癌组织和正常组织区分开来, 其敏感性、特异性、阳性及阴性预测值都等于1.

463个ESCC相关基因主要参与了下面的生物活动: 细胞周期、有丝分裂、细胞分离、DNA复制、转录调控、应对DNA损伤刺激、氧化损伤、发育、细胞增殖、DNA修复、细胞黏附.

有68个基因包括在KEGG信号通路数据中, 其中21个基因参与细胞周期, 10个基因参与DNA复制, 13个基因参与有丝分裂, 9个基因参与ECM受体相互作用, 19个基因参与癌变通路, 14个基因和黏附有关, 8个基因参与p53通路, 5个基因和脂肪酸代谢有关, 5个基因和错配修复有关, 8个基因参与小细胞肺癌. 有7个基因包括于BioCarta通路库中, 其中, 4个基因参与Role of Ran的纺锤体的调节, 3个基因参与应对DNA损伤信号的RB肿瘤抑制/检查点.

2.2 相关基因的转录因子 应用TFactS富集出8个转录因子, 并符合下列条件的: P<0.05, E<0.05, Q<0.05和FDR<0.05. 在ESCC相关基因中, *Myc*、*GLI2*、*TCF/BETA-CATENIN*、*FOXO3*、*SP*、*ETV4*、*FOXO*和*GLI*对应的靶基因数分别为30、14、23、9、13、4、12和13. 只有*Myc*, *SP1*和*FOXO3*分别有19、2、1个相互作用的蛋白, SP1有2个上游酶分子.

共有110个基因, 包括了转录因子靶基因、相互作用蛋白基因和上游酶基因. 我们称这些基因为转录因子调控基因. 通过DAVID在线工具分析这些基因的本体功能和通路. 参与的生物过程主要是细胞周期、有丝分裂、细胞移动、应对DNA损伤刺激、DNA修复.

在KEGG通路上包括了37个基因, 其中19个基因参与癌通路, 10个基因与黏着斑有关, 8个基因与细胞周期有关, 5个基因与ECM受体相互作用有关, 6个基因与小细胞肺癌有关, 5个基因与卵母细胞减数分裂有关, 4个基因与p53信号通路相联系, 3个基因参与脂肪酸代谢, 5个基因与T细胞受体信号通路相关. 有5个基因与BioCarta通路相联系, 包括Erk1/Erk2 Mapk信号通路和BAD磷酸化的调控.

为了探索转录因子的调控作用, 我们用χ^2检验比较了463个ESCC相关基因(genuine genes involved in ESCC, *GGE*)和110个转录因子调控基因(transcription factors regulating genes, *TFG*)参与KEGG信号通路的差异, 发现虽然单个通路上有明显差别, 但从总体性来说, TFG和GGE没有明显区别, 换而言之, 从KEGG通路来角度, TFG可以代表GGE(表1).

2.3 分子网络构建 首先, 110个基因放入http://string.embl.de上的对话框中, 种属选为人类, 所需信度为高信度(0.7), 发现78个相互作用基因. 其中, 37个基因构成71对被其他研究组证实的共表达基因, 这些基因中, 22个基因是*Myc*的靶基因. 为了证明他们基因是否共表达, 应用Spearman法把22基因中的一个CDC6表达值与其他基因进行相关分析, 发现CDC6表达和其他基因的密切相关(P<0.001, r>0.7). 这22个基因主要参与了如细胞周期和DNA复制等生物过程. 总之, 在78个基因中, 他们相互联系, 或激活或相互抑制或共表达.

其次, 110个基因行成了316组相互作用的基因, 包括上面提到的78个基因中的156对. 这316组输入到cytoscape工具中, 构建了一个由转录因子调控的分子网络(图1).

图中显示围绕8个转录因子的分子分布, 第1、2部分的联系比其他部分更加紧密. 第1部分的分子主要参与细胞周期, 第2部分分子参与细胞基质和细胞间的信号联系.

3 讨论

基因芯片技术具有高通量和高灵敏度的特点, 此技术可以实现全基因组基因变化检测. 有不少全基因组表达谱研究ESCC的报道[13,14], 但是大部分前人的研究只报道所选择的少数几个基因, 没有显示总体的数据. 不同的研究中, 所报道的差异基因很少有重复. 许多因素, 如样品、平台、分析等等会导致芯片结果的重复性差. 许多科学家做了很大的努力去利用Meta分析从不同芯片中得到可靠结果, 但不能克服一些关键性的问题, 如注解、跨平台的比较等[15]. 在本文中, 我们选择了同一平台的两个数据集分析. 首先, 利用较大的数据集常规分析, 寻找差异基因. 然后, 以这些差异基因为背景, 对另一个数据库进行分类, 确定此数据集中的差异基因. 为了避免假阳性, 我们采用了很多的算法进行分类, 如支持向量机、贝叶斯复合协变量和对角线性判别分析等, 且差异基因必须满足严格的条件, 使肿瘤组织和正常组织100%分离, 且P<0.01. 这个方法不仅避免了通常以计算两个研

■相关报道

Ahmed等建立了转录因子靶基因数据库是经过高质量实验验证, 用Hypergeometric公式进行Fisher's test计算P值, 富集表达基因的转录因子, Ma等报道系统挖掘了基因表达谱的顺贩子调控原件以揭示转录条调控机制.

■创新盘点

利用生物信息学方法从食管鳞癌差异表达基因中富集出转录因子，根据转录因子目的基因、结合蛋白和差异基因的相互作用来分析其调控作用，并建立了相互作用分子网络.

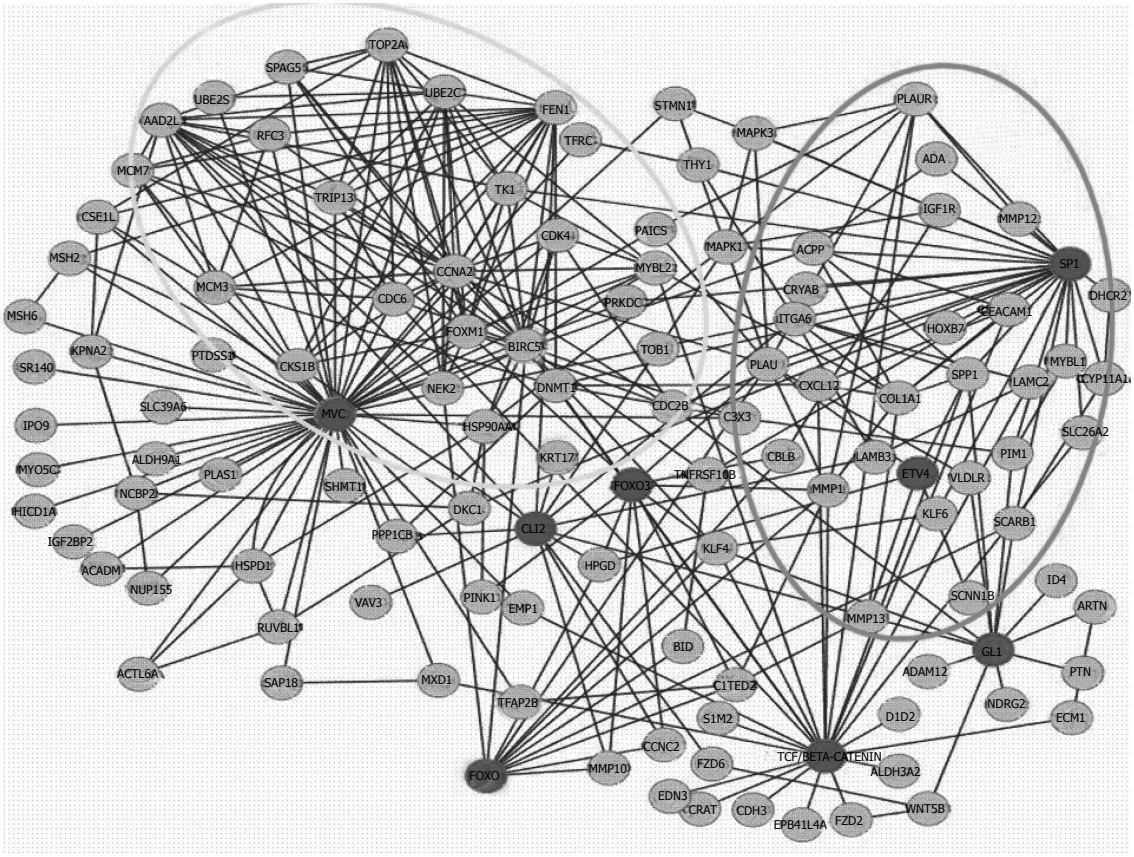


图 1 与ESCC相关转录因子的分子网络.

表 1 在KEGG通路中GGE和TFG的差异 (*n*)

	癌化	黏着斑	细胞周期	ECM受体	卵母细胞细胞分裂	p53信号通路	肺癌	脂肪酸
GGE	19	14	21	9	13	8	8	5
TFGs	19	10	8	5	5	4	6	3

GGE: 食管鳞癌真正相关基因; TFG: 转录因子调控基因; ECM: 细胞外基质.

究的差异基因交叉部分为结果所引起的假阳性，而且通过整合两项研究的结果得到了真正的肿瘤相关基因.

转录子是调控基因表达的主要因子. 几种方法可以用来整合基因表达数据和其他类型基因组数据以鉴定转录因子靶基因，其中GRAM、ReMO Discovery和COGRIM就是整合基因表达、ChIP-chip和motif数据寻找基因调控模块的方法[16-18]. ChIP-chip可全基因组检测，但是他费力，费时，并且价格昂贵，至今为止尚缺乏有关ESCC的ChIP-chip的数据. 位置权矩阵常用来确定已知转录因子结合位点，但易产生假阳性和假阴性. 我们采用Ahmed Essaghir's的方法，所利用的转录因子靶基因数据库是经过高质量实验验证，用Hypergeometric公式进行Fisher's test计算*P*值[8]. 我们筛选出了8个重要的转录因子. 研究表明这些转录因子和肿瘤发生、发展有关. 其中*Myc*是一个癌基因，他特异地影响肿瘤浸润和迁移调节肿瘤转移，这个基因也被Catenin/TCF调节[19]. GL1与ESCC细胞生存与放化疗敏感性密切相关，是hedgehog通路组份[20]. SP1通过调节细胞周期相关基因和血管内皮生长因子在多肿瘤生长和转移过程中起到了非常关键作用[21]. Foxo是直接影响到细胞增殖、氧化应激和肿瘤发生的转录因子家族，其中，Foxo3是肿瘤抑制因子，研究显示在肿瘤细胞核中Foxo3的积累与化疗敏感性增加及食管癌患者存活率提高密切相关[22].

为了研究食管癌中转录因子的作用，除了靶基因外，我们查找了其上游分子，并通过PPI数

据库, 从差异基因中获得与之相互作用的蛋白分子基因. 这些分子和转录因子一起共有110个, 他们参与了一系列重要的与肿瘤的发生有关的生物过程和信号通路, 如25个基因参与了细胞生物周期, 19个基因参与了癌通路. 进一步研究发现, 从KEGG的角度, 这110个基因与463个食管癌相关基因所起作用没有明显的区别, 这意味着这110个基因在通路中的作用能够替代463个食管癌相关基因.

为了研究转录因子之间的关系, 构建了110个基因的分子网络. 首先, 转录因子和他们的靶基因、结合因子以及上游酶类相互联系成154对. 然后我们研究了110个基因(包括8个转录因子)相互关系, 发现有162对, 他或共表达, 或结合、或催化、或激活或抑制, 如FOXM1结合并抑制FOXO3, 调节CDC25B、NEK2、PLU的表达. 最后, 我们研究了转录因子之间的相互关系, 发现: ETV4与SP1形成一个复合物, SP1和β-蛋白/TCF介导*c-Myc*的表达; *Myc*抑制FOXO3的活性[23-25]. 这样我们构建了一个由110个点和316条边组成的分子网络.

总之, 我们从基因表达的数据中富集了8个重要的转录因子, 这些因子通过靶基因和相互作用的基因在食管鳞癌中起到非常重要的作用, 并组成了一个相互作用的复杂网络. 本研究为理解食管癌基因变化及转录因子作用提供了有用信息. 今后, 我们将通过实验证明这些结论.

■应用要点

所富集的8个转录因子及其相互作用的基因在食管鳞癌中起到非常重要的作用, 有助于揭示食管癌发生、发展机制, 并可作为药物开发的靶点.

4 参考文献

1 Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108 [PMID: 15761078]

2 Enzinger PC, Mayer RJ. Esophageal Cancer. N Engl J Med 2003; 349: 2241-2252 [DOI: 10.1056/NEJMra035010]

3 Ogawa R, Ishiguro H, Kuwabara Y, Kimura M, Mitsui A, Mori Y, Mori R, Tomoda K, Katada T, Harada K, Fujii Y. Identification of candidate genes involved in the radiosensitivity of esophageal cancer cells by microarray analysis. *Dis Esophagus* 2008; 21: 288-297 [PMID: 18477249 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2007.00759.x]

4 Sato T, Iizuka N, Hamamoto Y, Yoshino S, Abe T, Takeda S, Uchimura S, Miyamoto T, Sei F, Hamada K, Yamada-Okabe H, Oka M. Esophageal squamous cell carcinomas with distinct invasive depth show different gene expression profiles associated with lymph node metastasis. *Int J Oncol* 2006; 28: 1043-1055 [PMID: 16596220]

5 Defrance M, Touzet H. Predicting transcription factor binding sites using local over-representation and comparative genomics. *BMC Bioinformatics* 2006; 7: 396 [PMID: 16945132]

6 Hestand MS, van Galen M, Villerius MP, van Ommen GJ, den Dunnen JT, 't Hoen PA. CORE_TF: a user-friendly interface to identify evolutionary conserved transcription factor binding sites in sets of co-regulated genes. *BMC Bioinformatics* 2008; 9: 495 [PMID: 19036135 DOI: 10.1186/1471-2105-9-495]

7 Ma Q, Chirn GW, Szustakowski JD, Bakhtiarova A, Kosinski PA, Kemp D, Nirmala N. Uncovering mechanisms of transcriptional regulations by systematic mining of cis regulatory elements with gene expression profiles. *BioData Min* 2008; 1: 4 [PMID: 18822150 DOI: 10.1186/1756-0381-1-4]

8 Essaghir A, Toffalini F, Knoops L. et al.Transcription factor regulation can be accurately predicted from the presence of target gene signatures in microarray gene expression data. *Nucleic Acids Res* 2010; 38: e120 [DOI: 10.1093/nar/gkq149]

9 Keshava Prasad TS, Goel R, Kandasamy K, Keerthikumar S, Kumar S, Mathivanan S, Telikicherla D, Raju R, Shafreen B, Venugopal A, Balakrishnan L, Marimuthu A, Banerjee S, Somanathan DS, Sebastian A, Rani S, Ray S, Harrys Kishore CJ, Kanth S, Ahmed M, Kashyap MK, Mohmood R, Ramachandra YL, Krishna V, Rahiman BA, Mohan S, Ranganathan P, Ramabadran S, Chaerkady R, Pandey A. Human Protein Reference Database--2009 update. *Nucleic Acids Res* 2009; 37: D767-D772 [PMID: 18988627 DOI: 10.1093/nar/gkn892]

10 Aranda B, Achuthan P, Alam-Faruque Y, Armean I, Bridge A, Derow C, Feuermann M, Ghanbarian AT, Kerrien S, Khadake J, Kerssemakers J, Leroy C, Menden M, Michaut M, Montecchi-Palazzi L, Neuhauser SN, Orchard S, Perreau V, Roechert B, van Eijk K, Hermjakob H. The IntAct molecular interaction database in 2010. *Nucleic Acids Res* 2010; 38: D525-D531 [PMID: 19850723 DOI: 10.1093/nar/gkp878]

11 Xenarios I, Salwínski L, Duan XJ, Higney P, Kim SM, Eisenberg D. DIP, the Database of Interacting Proteins: a research tool for studying cellular networks of protein interactions. *Nucleic Acids Res* 2002; 30: 303-305 [PMID: 11752321]

12 Smoot ME, Ono K, Ruscheinski J, Wang PL, Ideker T. Cytoscape 2.8: new features for data integration and network visualization. *Bioinformatics* 2011; 27: 431-432 [PMID: 21149340 DOI: 10.1093/bioinformatics/btq675]

13 Su H, Hu N, Yang HH, Wang C, Takikita M, Wang QH, Giffen C, Clifford R, Hewitt SM, Shou JZ, Goldstein AM, Lee MP, Taylor PR. Global gene expression profiling and validation in esophageal squamous cell carcinoma and its association with clinical phenotypes. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 2955-2966 [PMID: 21385931 DOI: 10.1158/1078-0432]

14 Kashyap MK, Marimuthu A, Kishore CJ, Peri S, Keerthikumar S, Prasad TS, Mahmood R, Rao S, Ranganathan P, Sanjeeviah RC, Vijayakumar M, Kumar KV, Montgomery EA, Kumar RV, Pandey A. Genomewide mRNA profiling of esophageal squamous cell carcinoma for identification of cancer biomarkers. *Cancer Biol Ther* 2009; 8: 36-46 [PMID: 18981721]

15 Hong F, Breitling R. A comparison of meta-analysis methods for detecting differentially expressed genes in microarray experiments. *Bioinformatics* 2008; 24: 374-382 [PMID: 18204063 DOI: 10.1093/bioinformatics/btm620]

16 Bar-Joseph Z, Gerber GK, Lee TI, Rinaldi NJ, Yoo JY, Robert F, Gordon DB, Fraenkel E, Jaakkola TS,

■同行评价
本文技术路线先进, 成熟, 结果可信, 结论客观, 对后续的研究有一定的指导作用.

Young RA, Gifford DK. Computational discovery of gene modules and regulatory networks. *Nat Biotechnol* 2003; 21: 1337-1342 [PMID: 14555958]
17 Chen G, Jensen ST, Stoeckert CJ. Clustering of genes into regulons using integrated modeling-COGRIM. *Genome Biol* 2007; 8: R4 [PMID: 17204163]
18 Lemmens K, Dhollander T, De Bie T, Monsieurs P, Engelen K, Smets B, Winderickx J, De Moor B, Marchal K. Inferring transcriptional modules from ChIP-chip, motif and microarray data. *Genome Biol* 2006; 7: R37 [PMID: 16677396]
19 Zhao L, Shan B, Du Y, Wang M, Liu L, Ren FZ. Periplocin from Cortex periplocae inhibits cell growth and down-regulates survivin and c-myc expression in colon cancer in vitro and in vivo via beta-catenin/TCF signaling. *Oncol Rep* 2010; 24: 375-383 [PMID: 20596624]
20 Zhu W, You Z, Li T, Yu C, Tao G, Hu M, Chen X. Correlation of hedgehog signal activation with chemoradiotherapy sensitivity and survival in esophageal squamous cell carcinomas. *Jpn J Clin Oncol* 2011; 41: 386-393 [PMID: 21127038 DOI: 10.1093/jjco/hyq217]
21 Li L, Davie JR. The role of Sp1 and Sp3 in normal and cancer cell biology. *Ann Anat* 2010; 192: 275-283 [PMID: 20810260]
22 Chen MF, Fang FM, Lu CH, Lu MS, Chen WC, Lee KD, Lin PY. Significance of nuclear accumulation of Foxo3a in esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2008; 71: 1220-1229 [PMID: 18572085 DOI: 10.1016/j.ijrobp]
23 Jiang J, Wei Y, Shen J, Liu D, Chen X, Zhou J, Zong H, Yun X, Kong X, Zhang S, Yang Y, Gu J. Functional interaction of E1AF and Sp1 in glioma invasion. *Mol Cell Biol* 2007; 27: 8770-8782 [PMID: 17938207]
24 Modak SP, Principaud E, Spohr G. Regulation of Xenopus c-myc promoter activity in oocytes and embryos. *Oncogene* 1993; 8: 645-654 [PMID: 8437848]
25 Chandramohan V, Mineva ND, Burke B, Jeay S, Wu M, Shen J, Yang W, Hann SR, Sonenshein GE. c-Myc represses FOXO3a-mediated transcription of the gene encoding the p27(Kip1) cyclin dependent kinase inhibitor. *J Cell Biochem* 2008; 104: 2091-2106 [PMID: 18393360 DOI: 10.1002/jcb.21765]

编辑 田滢 电编 闫晋利

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

世界华人消化杂志 2013年6月8日; 21(16): 1539-1543
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

新疆哈萨克族食管癌的危险因素

李 婧, 蔡金凤, 秦江梅

李婧, 石河子大学医学院预防医学系 新疆维吾尔自治区石河子市 832002
蔡金凤, 石河子大学第一附属医院老干科 新疆维吾尔自治区石河子市 832002
秦江梅, 卫生部卫生发展研究中心 北京市 100191
李婧, 在读硕生, 主要从事消化系统病食管癌研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 30660161
作者贡献分布: 此课题由秦江梅设计; 研究过程由蔡金凤操作完成; 数据分析由李婧与蔡金凤完成; 本论文写作由李婧、蔡金凤及秦江梅完成.
通讯作者: 秦江梅, 教授, 100191, 北京市海淀区学院路38号, 卫生部卫生发展研究中心. qinjiangmei@yahoo.com.cn
电话: 010-82801398
收稿日期: 2013-04-01 修回日期: 2013-04-17
接受日期: 2013-05-12 在线出版日期: 2013-06-08

Risk factors for esophageal cancer in Kazakhs in Xinjiang Uygur Autonomous Region

Jing Li, Jin-Feng Cai, Jiang-Mei Qin

Jing Li, Department of Preventive Medicine, School of Medicine, Shihezi University, Shihezi 832002, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Jin-Feng Cai, Department of Retired Cadres Section, the First Affiliated Hospital of Shihezi University, Shihezi 832002, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Jiang-Mei Qin, Health Development Research Center, Ministry of Health, Beijing 100191, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30660161
Correspondence to: Jiang-Mei Qin, Professor, Health Development Research Center, Ministry of Health, 38 Xueyuan Road, Haidian District, Beijing 100191, China. qinjiangmei@yahoo.com.cn
Received: 2013-04-01 Revised: 2013-04-17
Accepted: 2013-05-12 Published online: 2013-06-08

Abstract

AIM: To explore risk factors for esophageal cancer (EC) in Kazakhs in Xinjiang.

METHODS: A 1 : 2 case-control study was conducted with 155 cases of EC and 310 controls. The controls were matched to the cases by sex, nationality, and age. Factors affecting the development of EC were investigated using conditional Logistic regression analysis.

RESULTS: Drinking water (OR = 1.59), spicy diet (OR = 1.51), history of alcohol (OR = 1.50), consumption of old crops (OR = 2.21), eating less fruit (OR = 1.27), family history of esophageal cancer (OR = 1.77), *TAP2379* A/A or A/G genotype (OR = 1.41), and *CYP2E1* C1/C1 genotype (OR = 1.46) were found to be risk factors for esophageal cancer. There existed interactions among *CYP2E1* and *TAP2379* genotypes, history of alcohol, and consumption of old crops.

CONCLUSION: The development of esophageal cancer in Kazakhs is associated with bad environment, diet, and genetic polymorphisms, and is a result of combined action of various risk factors.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Esophageal cancer; Case-control study; Logistic regression; Risk factors

Li J, Cai JF, Qin JM. Risk factors for esophageal cancer in Kazakhs in Xinjiang Uygur Autonomous Region. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(16): 1539-1543 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1539.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1539

摘要

目的: 探讨新疆哈萨克族食管癌(esophageal cancer, EC)发病危险因素.

方法: 采用1 : 2病例对照研究方法, 共收集155个哈萨克族EC患者及310个同性别、同民族、年龄相差不大于±3岁的非EC为对照, 采用条件Logistic回归进行影响因素分析.

结果: 饮用河水(OR = 1.59)、辛辣饮食(OR = 1.51)、饮酒史(OR = 1.50)、食用陈粮(OR = 2.21)、少吃水果(OR = 1.27)、EC家族史(OR = 1.77)、*TAP2379* G/A型或A/A型(OR = 1.41)、*CYP2E1* C1/C1型(OR = 1.46)等8个因素为EC的危险因素, *CYP2E1*基因与*TAP2379*基因型、饮酒史、食用陈粮存在交互作用.

结论: 哈萨克族EC的发生与不良环境、饮食、遗传基因多态性等均有关, 揭示哈萨克族EC是各危险因素综合作用的结果.

© 2013年版权归Baishideng所有.

■背景资料
食管癌(esophageal cancer, EC)的死亡率不同地区、不同民族差异很大, 新疆哈萨克族是我国EC的高发民族. 环境、行为危险因素、遗传易感基因等因素均与EC发生有关, 并且各因素间存在交互作用.

■同行评议者
程英升, 教授, 上海交通大学附属第六人民医院放射科

■研发前沿
将流行病学方法和分子生物学方法结合起来, 从宏观和微观两个角度来综合评价遗传因素和环境因素对哈族EC发生的影响.

关键词: 食管癌; 病例对照研究; Logistic回归; 危险因素

核心提示: 采用条件Logistic回归进行食管癌(esophageal cancer, EC)影响因素综合分析, 得出8个因素与EC的发生密切相关.

李婧, 蔡金凤, 秦江梅. 新疆哈萨克族食管癌的危险因素. 世界华人消化杂志 2013; 21(16): 1539-1543 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1539.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1539

0 引言

食管癌(esophageal cancer, EC)是我国常见的癌症. 不同民族、不同地区死亡率差异很大, 高低发病区人群EC死亡率可相差500倍[1]. 新疆哈萨克族是我国EC的高发民族, 2004-2005年哈萨克族EC的死亡率为67.6/10万, 远高于当地汉族水平. 课题组前期对危险因素研究已经得出生活方式、饮食因素、*MTHFRC677T*基因多态性等因素与哈萨克族EC有关[2-5]. 本文在前期研究的基础上增大样本量, 增加基因多态性的相关因素. 拟从环境、行为危险因素、遗传易感基因等多角度入手, 分析哈萨克族EC的危险因素及各因素间的交互作用.

1 材料和方法

1.1 材料 EC病例来自2008-2011年从新疆自治区人民医院、伊犁州友谊医院、伊犁州奎屯医院、新源县人民医院、阿勒泰地区人民医院和阿勒泰北屯医院六所医院新发病例, 共155例, 病例经病理活检、X线或内窥镜确诊. 对照来自同一医院的非肿瘤、非消化系疾病的住院患者或正常人群, 共310例. 匹配条件: 年龄相差不大于±3岁、同民族、同性别.

1.2 方法

1.2.1 调查: (1)基本状况, 包括性别、年龄、婚姻、职业、文化程度、人均收入等; (2)吸烟、饮酒和喝茶等嗜好习惯; (3)饮食习惯、食物结构及饮用水状况; (4)心理因素、上消化道疾病史以及EC家族史.

1.2.2 实验室检测: EC病例及对照均取新鲜全血, -80 ℃低温保存备用. 提取基因组DNA, 所有抽提的DNA均经1%琼脂糖凝胶电泳验证. 序列特异性引物聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)扩增所使用的引物参照文献, 检测*TAP2*编码区、*CYP2E1RsaI*位点多态性、*MTHFRC677T* 3种基因型的分布和检测*HLA-DR9*等位基因频率等.

1.2.3 配对: 采用1∶2配比的病例对照研究方法按1∶2配对, 共匹配155对. 男107对, 占69%; 女性48对, 占31%. 病例和对照平均年龄分别为58.5和58.14岁.

统计学处理 采用Logistic回归分析法. 按课题设计的既定标准对相关变量进行赋值, 利用条件Logistic回归进行EC危险因素分析, 计算回归系数估计值、标准误、*P*值、OR值及OR值的95%CI.

2 结果

2.1 单因素条件Logistic回归分析 将环境、行为及遗传易感基因等25个因素逐个带入Logistic回归模型, 吸烟、饮酒、饮水类型、进食速度、辛辣饮食、经常暴饮暴食、不规律饮食、食用陈粮、食用馕、马奶子、熏制食品、腌菜、胃及食管病变史、家族聚集史、少吃水果、*HLA-DRB1*0901*等位基因阳性、*TAP2379* G/A或A/A基因型、*TAP1637* A/G或G/G基因型、*MTHFRC677* TC/T或T/T基因型、*CYP2E1* C1/C1基因型等22个相关因素进入模型(表1).

2.2 多因素条件Logistic回归分析 将有意义的22个因素引入多因素条件Logistic回归模型, 结果显示: 食管家族史、辛辣饮食、饮酒史、食用陈粮、饮用河水、少吃水果、*TAP2379* G/A或A/A基因型和*CYP2E1* C1/C1基因型为危险因素等8个危险因素进入模型(表2).

2.3 *CYP2E1*基因多态性与相关危险因素的交互作用分析 *CYP2E1*基因型与*TAP2379*基因、饮酒史、食用陈粮之间均存在交互作用, 两因素联合作用远大于两者单独作用之和(表3).

3 讨论

3.1 EC危险因素比较 本文显示EC家族史、辛辣饮食、饮酒史、食用陈粮、饮用河水、少吃水果、*TAP2379* G/A或A/A基因型和*CYP2E1* C1/C1基因型等8个因素为危险因素. 与课题组前期研究[2-6]及其他学者的哈萨克族EC危险因素研究结果[6-8]相比, 食用陈粮对EC的影响最为明显, 其OR值为2.16, 与*CYP2E1* C1/C1基因联合作用可使EC的危险性增加21.6倍. 食用陈粮是哈族EC危险因素首次涉及, 并且与*CYP2E1*基因交互作用最大. 陈年粮食大都有真菌的污染[9,10], 真菌不仅能将硝酸盐还原成亚硝酸盐, 还能分解蛋白质, 增加食物中胺含量, 促进亚硝胺的合成. 许

表 1 环境、行为及遗传基因因素的单因素条件Logistic回归分析

因素	参数估计	标准误	χ^2值	*P*值	OR(95%CI)
饮水类型(对照 = 自来水)					
井水	0.33	0.21	2.61	0.11	1.39(0.93–2.08)
河水	0.83	0.19	19.53	0	2.29(1.59–3.30)
生水(对照 = 不饮)					
偶尔	0.66	0.18	12.9	0	1.94(1.35–2.78)
经常	0.9	0.26	11.93	0	2.46(1.48–4.11)
吸烟史(对照 = 不吸烟)(支/d)					
1–10	0.03	0.19	0.03	0.86	1.03(0.75–1.49)
11–20	0.11	0.22	0.26	0.61	1.12(0.73–1.73)
>20	0.76	0.34	4.99	0.03	2.14(1.10–4.19)
饮酒史(对照 = 否)	0.7	0.16	17.94	0	2.01(1.45–2.77)
进食速度(对照≥30)(min)					
10–30	0.16	0.2	0.64	0.43	1.18(0.79–1.74)
<10	0.73	0.24	9.38	0	2.08(1.30–3.32)
辛辣饮食(对照 = 否)					
偶尔	0.94	0.2	21.65	0	2.55(1.72–3.78)
经常	1.09	0.25	18.78	0	2.96(1.81–3.91)
暴饮暴食(对照 = 否)					
偶尔	0.18	0.22	0.73	0.39	1.20(0.79–1.83)
经常	0.96	0.26	14.23	0	2.62(1.59–4.32)
规律饮食(对照 = 规律)					
偶尔不规律	0.35	0.18	3.63	0.06	1.41(0.99–2.01)
经常不规律	0.94	0.23	17	0	2.57(1.64–4.01)
粮食存放1年以上	1.01	0.21	24.1	0	2.74(1.83–4.11)
食用馕(对照 = 否)	0.42	0.15	8.4	0	1.52(1.15–2.02)
食用马奶子(对照 = 否)	0.21	0.1	3.95	0.05	1.24(1.00–1.53)
食用熏制肉(对照 = 否)	0.67	0.33	4.4	0.04	1.99(1.05–3.77)
少吃水果(对照 = 常食用)	0.34	0.11	10.11	0	1.41(1.14–1.74)
腌菜(对照 = 不吃或偶尔吃)	0.22	0.06	11.67	0	1.24(1.10–1.41)
胃病变史(对照 = 无病变史)	0.45	0.2	4.78	0.03	1.56(1.05–2.32)
食管病变史(对照 = 无)	1.12	0.23	24.6	0	3.07(1.97–4.78)
家族史(对照 = 无家族史)	0.72	0.16	19.23	0	2.05(1.49–2.82)
*CYP2E1*基因型(对照 = C1/C2或C2/C2型)					
C1/C1型	0.44	0.16	7.39	0.01	1.55(1.13–2.14)
*HLA–DRB1*0901*等位基因(对照 = 阴性)					
阳性	0.62	0.19	11.35	0	1.87(1.30–2.68)
TAP2379(对照 = G/G型)					
G/A或A/A型	0.55	0.16	11.46	0	1.74(1.26–2.39)
CTLA–4+49(对照 = A/A型)					
A/G+G/G型	0.21	0.17	1.47	0.23	1.23(0.88–1.72)
TAP1637(对照 = A/A型)					
A/G+G/G型	0.42	0.16	6.61	0.01	1.51(1.10–2.08)
MTHFRC677T(对照 = C/C型)					
C/T+T/T型	0.4	0.19	4.51	0.03	1.50(1.03–2.18)
LMP2(对照 = R/R型)					
C/C+R/C型	0.12	0.16	0.5	0.48	1.12(0.82–1.54)
LMP7(对照 = Q/Q型)					
K/K+K/G型	–0.12	0.16	0.5	0.48	0.89(0.65–1.23)

■相关报道

本研究首次对新疆哈族EC及对照人群*TAP2*、*MTHFRC677T*、*CYP2E1*等8个基因的多态性进行检测, 分析哈萨克族EC与环境、行为危险因素、遗传易感基因等多方面的关系, 为哈族EC的预防及干预策略提供有价值的参考依据.

多研究中已证实[11]亚硝胺类化合物是EC的危险因素. 而*CYP2E1*作为代谢亚硝胺类化合物的重要Ⅰ相代谢酶, 其代谢能力是决定个体易感性的重要因素, 国内外许多学者认为其代谢能力与基

■应用要点

通过1∶2病例对照研究, 检测155例病例和310例*HLA-DRB1*0901*等位基因阳性、*TAP2379*基因、*TAP1637*基因、*MTHFRC677T*基因、*CYP2E1*基因多态性, 饮用河水、辛辣饮食、饮酒史、食用陈粮、少吃水果、EC家族史、*TAP2379* G/A型或A/A型、*CYP2E1* C1/C1型等8个因素为EC的危险因素, 为进一步干预研究提供更多的生物学证据.

表 2 多因素条件Logistic回归分析

因素	参数估计	标准误	χ^2值	*P*值	OR(95%CI)
TAP2379(对照 = G/G型)					
G/A型或A/A型	0.34	0.17	4.010	0.05	1.41(1.01–1.98)
CYP2E1(对照 = C1/C2或C2/C2基因型)					
C1/C1型	0.38	0.17	4.870	0.03	1.46(1.04–2.05)
饮酒史(对照 = 否)	0.40	0.18	5.310	0.02	1.50(1.04–3.39)
家族史(对照 = 无)	0.57	0.17	11.16	0.00	1.77(1.27–2.48)
粮食1年以上	0.79	0.22	13.27	0.00	2.21(1.44–3.93)
少吃水果(对照 = 常吃)	0.24	0.11	4.840	0.03	1.27(1.03–1.57)
辛辣饮食(对照 = 否)	0.41	0.13	10.90	0.00	1.51(1.18–1.93)
饮用河水(对照 = 自来水)	0.46	0.20	5.220	0.02	1.59(1.07–2.35)

表 3 *CYP2E1*基因多态性与相关危险因素的交互作用

CYP2E1		病例	对照	χ^2值	*P*值	OR(95%CI)
饮酒史						
–	–	25	122	–	–	1.00
–	+	36	80	6.99	0.00	2.20(1.23–3.93)
+	–	42	63	15.84	0.00	3.25(1.82–5.82)
+	+	52	35	40.88	0.00	7.25(3.90–13.31)
食用陈粮						
–	–	50	180	–	–	1.00
–	+	76	123	13.65	0.00	2.22(1.46–3.40)
+	–	17	5	22.06	0.00	12.24(4.30–34.81)
+	+	12	2	15.51	0.00	21.60(4.60–99.69)
TAP2379						
–	–	44	146	–	–	1.00
–	+	47	94	4.17	0.04	1.66(1.02–2.70)
+	–	23	39	4.57	0.03	1.96(1.06–3.62)
+	+	41	31	25.37	0.00	4.39(2.47–7.80)

因多态性有关. 近年也大多数研究认为*CYP2E1*基因多态性与EC有关[12-14], 与王伟等[15]在南京的研究结果相近.

3.2 EC危险因素的微效性 本文对多个危险因素进行分析, 不仅将环境、不良危险行为等因素引入模型而且还增加了5个易感基因. 研究结果可以看出所有8个危险因素中, OR值最大为2.21(食用陈粮), 最小为1.27(少吃水果), 并为发现一个OR值极高的因素. 在多基因的参与下, 每个因素的影响作用相对较小, 其危险度值基于1-2, 各因素对EC发生的作用均呈现微效性, 目前为止还未发现一个主作用因素. 可见环境、行为、遗传和易感基因等方面对EC的发生均有着推动作用[16], 而且环境、遗传、不良行为关系相对比较大, 因此对哈萨克族EC的发生应从多方面入手采取综合防控措施.

3.3 研究的局限性 本文对照组选取的也是哈萨克族居民, 由于哈萨克族是游牧民族, 其生活环境和饮食习惯等都具有特殊性, 一些高危因素在人群中会普遍存在, 这使对照组的患病风险同时也很高, 如果将对照组换成汉族或其他民族, 因素的危险性可能会更为明显.

4 参考文献

1 Lam AK. Molecular biology of esophageal squamous cell carcinoma. *Crit Rev Oncol Hematol* 2000; 33: 71-90 [PMID: 10737369]

2 王秀梅, 杰恩斯, 马彦清, 陈波, 郭小进, 阿力木太, 哈那提, 李锋, 杨磊, 秦江梅. 新疆哈萨克族食管癌危险因素病例对照研究. 中国公共卫生 2007; 23: 737-738

3 王秀梅, 张卫群, 陈波, 何玲, 阿力木太, 哈那提, 李锋, 杨磊, 秦江梅. MTHFR基因多态性与哈族食管癌易感性. 中国公共卫生 2007; 23: 937-938

4 陈波, 马彦清, 杨磊, 李锋, 王秀梅 廖佩花, 何玲, 秦江梅. 哈萨克族食管癌与CYP2E1基因多态性及烟酒嗜好的关系. 世界华人消化杂志 2007; 15: 3852-3888

5 曾同霞, 张海峰, 雷丽娟, 蔡金凤, 李锋, 廖佩花, 秦江梅. TAP2基因多态性及遗传因素与新疆哈族食管癌的病例对照研究. 世界华人消化杂志 2009; 17: 3255-3258
6 张娇, 沈孝兵. CYP2E1基因多态性与环境因素在胃癌发生中的交互作用. 环境与健康杂志 2006; 23: 7-10
7 赵凤娟, 云妙英, 张严, 徐羽. 新疆哈萨克族食管癌研究进展. 中央民族大学学报 2009; 18: 85-87
8 张慧霞, 陈艳 尹东, 邓彦超 马彦清, 居来提. 新疆哈萨克族食管癌危险因素的探讨. 现代预防医学 2009; 36: 1804-1806
9 Marasas WF. Discovery and occurrence of the fumonisins: a historical perspective. *Environ Health Perspect* 2001; 109 Suppl 2: 239-243 [PMID: 11359691]
10 谢莹, 孙桂菊, 胡旭, 王少康, 开海涛, 崔永生, 胡永祯, 张豪, 蔡青松, 王泽民, 唐耘天, 王加生. 淮安楚州居民饮食、行为因素与食管癌关系的病例一对照研究. 卫生研究 2005; 34: 479-480
11 汪求真, 周晓彬, 腾洪松. 中国人群饮食因素与食管癌Meta分析. 中国肿瘤 2007; 16: 3-7
12 Lin DX, Tang YM, Peng Q, Lu SX, Ambrosone CB, Kadlubar FF. Susceptibility to esophageal cancer and genetic polymorphisms in glutathione S-transferases T1, P1, and M1 and cytochrome P450 2E1. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998; 7: 1013-1018 [PMID: 9829710]
13 Hirvonen A, Husgafvel-Pursiainen K, Anttila S, Karjalainen A, Vainio H. The human CYP2E1 gene and lung cancer: DraI and RsaI restriction fragment length polymorphisms in a Finnish study population. *Carcinogenesis* 1993; 14: 85-88 [PMID: 8093864]
14 林东昕, 唐永明, 彭琼, 陆士新. 细胞色素P4502E1和谷胱甘肽转硫酶P1基因与食管癌易感性. 中华肿瘤杂志 1998; 20: 94-97
15 王伟, 施瑞华, 赵志泉. 细胞色素P450 2E1基因多态性与食管癌易感性的关系. 南京医科大学学报 2004; 24: 344-347
16 饶克勤, 李连弟. 中国恶性肿瘤危险因素研究. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2003: 235-248

编辑 田滢 电编 闫晋利

■同行评价
本文样本量大, 实验设计合理. 统计方法运用恰当合理, 在严格控制年龄、性别、居住地等因素的基础上, 利用多因素条件Logistic回归分析有一定的学术价值.

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

本刊讯 2011-12-02, 中国科学技术信息研究所在北京发布2010年中国科技论文统计结果, 经过中国精品科技期刊遴选指标体系综合评价, 《世界华人消化杂志》被评为2011年度中国精品科技期刊. 中国精品科技期刊以其整体的高质量示范作用, 带动我国科技期刊学术水平的提高. 精品科技期刊的遴选周期为三年. (《世界华人消化杂志》编辑部)

世界华人消化杂志 2013年6月8日; 21(16): 1544-1548
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

食管癌淋巴结转移的危险因素

邢 雪, 张志强, 温 浩, 李秀娟

■背景资料
食管癌是常见的消化系恶性肿瘤之一, 5年生存率低, 预后差. 影响其预后的主要因素就是肿瘤转移和肿瘤外侵, 而淋巴结转移是食管癌最常见的转移途径. 本文结合近年来国内外一些最新的文献报道对食管癌淋巴结转移的危险因素进行探讨, 对判定患者的分期和预后至关重要, 也为食管癌淋巴结转移的防治提供了一定的理论依据.

邢雪, 张志强, 新疆医科大学第一附属医院消化科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054
温浩, 新疆医科大学第一附属医院肝胆外科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054
李秀娟, 新疆医科大学病理生理学教研室 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054
邢雪, 主要从事消化系肿瘤的基础与临床研究.
新疆维吾尔自治区自然科学基金资助项目, No. 2010211B20
作者贡献分布: 此课题由张志强、温浩及李秀娟设计并组织实施完成; 资料的收集和整理、数据分析及论文写作由邢雪完成; 张志强、温浩及李秀娟对本课题进行了全程指导.
通讯作者: 张志强, 副主任医师, 830054, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市鲤鱼山南路137号, 新疆医科大学第一附属医院消化科. zhiqiangzhang2011@hotmail.com
收稿日期: 2013-02-23 修回日期: 2013-03-27
接受日期: 2013-04-12 在线出版日期: 2013-06-08

Potential risk factors for lymph node metastasis in esophageal cancer

Xue Xing, Zhi-Qiang Zhang, Hao Wen, Xiu-Juan Li

Xue Xing, Zhi-Qiang Zhang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Hao Wen, Department of Hepatobiliary Surgery, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Xiu-Juan Li, Department of Pathophysiology, Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Supported by: the Natural Science Foundation of Xinjiang Uygur Autonomous Region, No. 2010211B20
Correspondence to: Zhi-Qiang Zhang, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, 137 Liyushan South Road, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. zhiqiangzhang2011@hotmail.com
Received: 2013-02-23 Revised: 2013-03-27
Accepted: 2013-04-12 Published online: 2013-06-08

Abstract

AIM: To analyze the potential risk factors for lymph node metastasis in esophageal cancer.

METHODS: Clinicopathologic data for 217 patients with esophageal cancer who underwent surgical treatment from December 2008 to December 2011 were analyzed retrospectively. Clinicopathologic factors affecting lymph node metastasis were analyzed by univariate and multivariate analyses.

RESULTS: In total, 124 of 217 patients had lymph nodes metastasis, and the incidence of lymph nodes metastasis was 57.1%. Univariate analysis revealed that lymph node metastasis was correlated with pathological grade, lesion length, depth of invasion, and presence of vascular invasion or neural invasion, but not with gender, age, disease site, or pathological type. Invasion to the adventitia (OR = 4.710), vascular invasion (OR = 44.954) and neural invasion (OR = 7.264) were independent risk factors for lymph node metastasis.

CONCLUSION: Lymph node metastasis is associated with large tumors, deep invasion, low differentiation, vascular invasion and neural invasion in patients with esophageal cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Esophageal cancer; Clinicopathological characteristics; Lymph node metastasis; Risk factors

Xing X, Zhang ZQ, Wen H, Li XJ. Potential risk factors for lymph node metastasis in esophageal cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(16): 1544-1548 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1544.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1544

摘要

目的: 探讨食管癌淋巴结转移的潜在危险因素.

方法: 回顾性分析2008-12/2011-12经手术治疗的217例食管癌患者的临床病理资料, 对影响食管癌淋巴结转移的潜在危险因素进行单因素及多因素分析.

结果: 217例食管癌中淋巴结转移124例, 转移率为57.1%. 单因素分析结果显示, 食管癌淋巴结转移与病理分级、病变长度、浸润深度、有无脉管癌栓、有无神经癌栓有关, 分化不良、病变长度>5 cm、浸润至外膜、伴有脉管癌栓及神经癌栓的患者, 更易发生淋巴结转移. 淋巴结转移与性别、年龄、发病部位、

■同行评议者
张力为, 副教授, 新疆医科大学第一附属医院胸外科

病理类型无关. Logistic多因素回归分析显示, 浸润至外膜(OR = 4.710)、有脉管癌栓(OR = 44.954)、有神经癌栓(OR = 7.264)是淋巴结转移的独立性危险因素.

结论: 肿瘤越长(体积越大), 浸润深度越深, 分化程度越低(病理分级越高), 易发生淋巴结转移, 有脉管癌栓及有神经癌栓者易发生淋巴结转移.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 食管癌; 临床病理特征; 淋巴结转移; 危险因素

核心提示: 食管癌淋巴结转移与病理分级、病变长度、浸润深度、有无脉管癌栓、有无神经癌栓有关, 分化不良、病变长度>5 cm、浸润至外膜、伴有脉管癌栓及神经癌栓的患者, 更易发生淋巴结转移. 浸润至外膜、有脉管癌栓、有神经癌栓是淋巴结转移的独立性危险因素.

邢雪, 张志强, 温浩, 李秀娟. 食管癌淋巴结转移的危险因素. 世界华人消化杂志 2013; 21(16): 1544-1548 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1544.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1544

0 引言

食管癌是常见的消化系恶性肿瘤, 世界各国统计数据表明, 食管癌是世界第7位癌症相关死亡原因[1]. 全世界每年约有30万人死于食管癌. 其地理分布非常广泛, 发生率地区间差异明显. 在世界范围内, 高发地区为中国、日本、伊朗、南非和俄罗斯. 在我国, 每年至少新增病例约25万, 占全世界新增病例总数的一半. 淋巴结转移是食管癌最常见的转移途径, 而肿瘤浸润深度与局部或远处淋巴结转移是病变分期的关键指标, 亦是TNM分期中影响预后的独立因素, 对治疗方案的选择也有一定的指导作用. 本文对2008-12/2011-12资料完整的217例食管癌手术切除病例进行分析, 现分别对其淋巴结转移潜在危险因素进行分析.

1 材料和方法

1.1 材料 本组2008-12/2011-12新疆医科大学第一附属医院住院患者确诊食管癌217例, 男149例, 女68例, 男女之比为2.2∶1, 年龄29-90岁, 中位年龄62岁, 均行食管癌根治术.

1.2 方法 分别对217例食管癌患者的性别、年龄、发病部位、病理类型、病理分级、病变长度、浸润深度、有无脉管癌栓及神经癌栓等临床病理特征, 进行单因素及多因素分析, 找出影响食管癌的淋巴结转移潜在危险因素. 全部病例采用国际食管癌UICC 1987年分期标准; 发病部位分为上段、中段、下段、双原发癌(其中上段与下段并存1例, 上段与中段并存5例), 病理类型分为鳞癌、腺癌、其他(包括腺鳞癌、小细胞癌等), 组织学类型分为分化良好(高分化、中分化)、分化不良(低分化癌、未分化癌).

统计学处理 采用SPSS19.0统计软件进行单因素和多因素Logistic回归分析. $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 淋巴结转移 217例食管癌共检出124例发生淋巴结转移, 占所有病例的57.1%.

2.2 食管癌淋巴结转移潜在危险因素单因素分析 食管癌淋巴结转移潜在危险因素与淋巴结转移显著性相关的因素有患者病理分级、病变长度、浸润深度、有无脉管癌栓、有无神经癌栓. 单因素分析结果显示, 分化不良、病变长度>5 cm、浸润至外膜、伴有脉管癌栓及神经癌栓的患者, 更易发生淋巴结转移. 淋巴结转移与性别、年龄、发病部位、病理类型无关(表1).

2.3 食管癌淋巴结转移潜在危险因素多因素分析 多因素分析显示, 浸润至外膜、有脉管癌栓、有神经癌栓是淋巴结转移的独立性危险因素, 3个指标的OR值均>1, 分别为4.710、44.954、7.264. 其淋巴结转移的危险性分别是未浸润至外膜、无脉管癌栓及无神经癌栓的3.398倍、4.504倍和11.400倍. 浸润至外膜、有脉管癌栓、有神经癌栓的患者, 更易发生淋巴结转移(表2).

3 讨论

食管癌是消化系常见恶性肿瘤, 具有局部浸润、累及淋巴结及由血源性播散引起的广泛转移的生物学行为, 5年生存率低, 预后差. 影响食道癌预后的因素较多, 主要因素就是肿瘤转移和肿瘤外侵. 其侵袭转移是一个复杂的过程, 与多个基因和多个分子水平变化密切相关[2-9]. 淋巴结转移是食管癌最常见的转移途径, 食管癌的淋巴结转移部位深、范围广, 涉及颈、胸、腹部等多个区域, 具有上、下双向性和颈、胸、腹跳跃式转移的特点. 即使采用胸、腹、

■研发前沿
影响肿瘤预后的主要因素就是肿瘤转移和肿瘤外侵, 食管癌的发生发展、侵袭和转移涉及许多因素, 而淋巴结是食管癌最常见的侵袭和转移部位. 因此, 进一步探讨食管癌淋巴结转移的危险因素, 对改善食管癌患者的预后至关重要.

■相关报道
食管癌淋巴结转移与肿瘤长度、肿瘤浸润深度、肿瘤分化程度、脉管癌栓有关, 认为脉管侵犯及肿瘤浸润深度是发生淋巴结转移的独立危险因素, 可显著增加淋巴结转移度.

■创新盘点

食管癌淋巴结转移与神经侵犯有关, 但此方面研究较少, 本研究多因素回归分析证实神经癌栓是淋巴结转移的独立危险因素, 有待于扩大样本数量和大规模的临床研究进一步验证.

表 1 食管癌淋巴结转移潜在危险因素的单因素分析

变量	淋巴结转移(+)(*n*)	淋巴结转移(–)(*n*)	淋巴结转移率(%)	*P*值
性别				0.135
男	99	50	66.44	
女	38	30	55.88	
年龄(岁)				0.969
≤60	55	41	57.29	
>60	69	52	57.02	
发病部位				0.887
上段	13	13	50	
中段	79	60	56.83	
下段	27	19	58.7	
双原发癌	3	3	50	
病理类型				0.695
鳞癌	112	87	56.28	
腺癌	8	4	66.67	
其他	4	2	66.67	
病理分级				0.021
分化良好	105	88	54.4	
分化不良	19	5	79.17	
病变长度(L)(cm)				0
L≤3	13	24	35.14	
3<L≤5	28	45	38.36	
L>5	83	24	77.57	
浸润深度				0
未及外膜	14	56	20	
外膜	110	37	74.83	
脉管癌栓				0
有	117	12	90.7	
无	6	82	6.82	
神经癌栓				0
有	112	10	91.8	
无	12	83	12.63	

颈三野淋巴结清扫的手术方式治疗食管癌患者, 仍有11%发生手术后淋巴结转移[10]. 对比UICC对食管癌TNM分期的连续修改, 可以看出, 食管癌的区域淋巴结转移分型更加细化和扩大, 对于食管癌淋巴结手术清扫的要求也细化和扩大化. 最新的TNM第7版分期也把淋巴结转移个数因素加入到了新版的食管癌的TNM分期中. 国内有文献报道食管癌有淋巴结转移和无淋巴结微转移的复发率分别为50%和9%, 5年生存率分别为28%和79%, 有明显相关性[11]. 王洲等[12]的研究中Logistic多因素回归分析结果亦显示淋巴结微转移是独立的预后因素, 淋巴结微转移患者死亡的概率是无转移患者的3.7倍. 这些都显示出淋巴结转移是食管癌预后的重要影响因素. 因此, 识别食管癌淋巴结转移的潜在危险因素, 对判定患者的预后和采取相应的综合治疗至关重要.

食管癌淋巴结转移极其复杂, 并有有许多影响因素, 主要包括以下: 肿瘤长度、肿瘤浸润深度、组织学类型、肿瘤分化程度、肉眼类型等, 但是在许多研究中有些因素是不完全一致的. 本研究单因素分析显示, 食管癌淋巴结转移与病理分级、病变长度、浸润深度、有无脉管癌栓、有无神经癌栓有关, 多元分析Logistic回归分析显示, 浸润至外膜、有脉管癌栓、有神经癌栓是淋巴结转移的独立性危险因素.

关于病理分级与淋巴结转移的关系, 大多数研究人员认为淋巴结转移率随着肿瘤组织学分级的增加和分化程度的降低而增加, Siewert等[13]分析表明食管癌肿瘤分化程度对食管癌淋巴转移是一个独立影响因素, 分化程度越高, 淋巴转移越低. 本研究通过单因素分析发现不同分化

表 2 食管癌淋巴结转移潜在危险因素的多因素分析

临床病理参数	B	SE	Walds	*P*值	OR值	95%CI
浸润深度	1.550	0.691	5.033	0.025	4.710	1.216–18.239
脉管癌栓	3.806	0.810	22.101	0.000	44.954	9.198–219.695
神经癌栓	1.983	0.713	7.730	0.005	7.264	1.795–29.396

■应用要点
本文应用多因素回归分析方法探讨食管癌淋巴结转移危险因素, 为外科手术中合理清扫淋巴结范围和数量及手术后辅助治疗方案的选择提供了一定的理论依据.

程度病例组之间淋巴结转移率差别有统计学意义. 多因素分析发现病理分级并不是影响食管癌淋巴结转移的独立危险因素. 本研究结果显示分化不良组淋巴结转移率明显高于分化良好组, 说明病理分级为影响食管癌淋巴结转移的一项重要因素.

病变长度间接地反映了肿瘤的生物学特征, 反应了病期的早晚, 一般来讲, 病变长度越长, 肿瘤发展的时期越长, 病期也比较晚. 关于肿瘤长度与淋巴结转移的关系, 文献报道不一致. 张合林等[14]认为, 病变长度与淋巴结转移呈正相关. 冯庆来等[15]发现病变越长发生淋巴结转移越多, 病变长度>5 cm淋巴结转移率为64.00%, 虽高于病变长度≤5 cm淋巴结转移率的44.62%, 但无显著性差异. 刘海峰等[16]发现肿瘤长径<3 cm、3-5 cm、>5 cm 3组的淋巴结转移都有显著差异, 提示随着肿瘤长径的增加淋巴结转移度升高, 肿瘤>5 cm组, 淋巴结转移度明显增高. 本研究单因素分析显示, 不同病变长度病例组之间淋巴结转移率差别有统计学意义. 多因素分析发现有病变长度并不是影响食管癌淋巴结转移的独立危险因素. 随着病变长度的增加, 淋巴结的转移率随之增加, 说明病变长度为影响食管癌淋巴结转移的一项重要因素. 由于浸润深度不同, 食管壁淋巴管的情况下是不同的. 肿瘤浸润得越深, 淋巴引流越丰富, 淋巴结转移率越高. 食管壁从黏膜肌层到外膜有丰富的淋巴引流系统. 黏膜下层淋巴引流不仅横向而且垂直贯穿到相邻的淋巴结. 通过淋巴结形态学研究发现, 纵向淋巴引流比横向淋巴引流更丰富. 如果肿瘤浸润到黏膜下层或更深, 他们将处在相同的淋巴引流网络中. 因此, 黏膜下层浸润的早期食管癌, 可以发现广泛转移, 甚至跳跃式转移. Rice等[17]认为肿瘤侵犯到食管黏膜下层(T1), 区域淋巴结转移度就会明显增加, 肿瘤侵犯愈深, 肿瘤细胞侵入淋巴管的机会愈多, 区域淋巴结的转移度也愈高. Gotohda等[18]在浅表食管癌患者中评估淋巴结转移率发现, 肿瘤侵及黏膜层, 淋巴结转移率是0, 而肿瘤侵入黏膜下层, 淋巴结转移率是44%. 本研究单因素分析显示, 各不同浸润深度病例组淋巴结转移率比较具有明显统计学差异(P<0.005). 经多因素Logistic回归分析示浸润深度的OR值为4.710, 说明浸润深度是食管癌淋巴结转移的独立危险因素.

关于脉管及神经癌栓与淋巴结转移的关系, 本研究单因素分析显示, 无脉管及神经癌栓组与有脉管及神经癌栓组比较, 淋巴结转移率明显增高, 差异有统计学意义(P<0.005). 经多因素Logistic回归分析示的脉管癌栓的OR值为44.954, 神经癌栓的OR值为7.264, 有脉管癌栓者发生淋巴结转移的风险是无脉管癌栓的44.954倍, 有神经癌栓者发生淋巴结转移的风险是无神经癌栓的7.264倍, 说明脉管及神经癌栓是食管癌淋巴结转移的独立危险因素. 脉管癌栓是发生淋巴结转移的危险因素, 已为许多研究所证实[19]. 本研究显示, 神经癌栓亦是淋巴结转移的危险因素, 可能与神经伴行的脉管引流有关.

目前食管癌整体治疗效果不佳, 治疗方式仍以外科根治术为首选, 淋巴结转移是术后复发和死亡的主要原因. 本研究多因素分析发现, 浸润至外膜、有脉管癌栓、有神经癌栓是淋巴结转移的独立性危险因素. 因此, 临床上选择治疗方式时, 浸润深度、脉管及神经癌栓情况是非常重要的因素. 由于术前较难判断有无脉管及神经癌栓. 因此, 浸润深度就成为更有价值的参考指标. 对病理证实有脉管及神经癌栓者, 亦应结合患者自身情况, 考虑有无扩大淋巴结清扫范围的必要性, 做到个体化综合治疗. 明确食管癌潜在危险因素, 对明确患者的分期和预后、规划合理的手术范围及采取相应的术后综合治疗具有重要意义.

4 参考文献

1 Cao XF, He XT, Ji L, Xiao J, Lv J. Effects of neoadjuvant radiochemotherapy on pathological staging and prognosis for locally advanced esophageal squamous cell carcinoma. *Dis Esophagus* 2009; 22: 477-481 [PMID: 19703071 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2008.00910.x]
2 Li X, Lu JY, Zhao LQ, Wang XQ, Liu GL, Liu Z, Zhou CN, Wu M, Liu ZH. Overexpression of ETS2

■同行评价
本课题针对食管癌淋巴结转移危险因素(多因素回归分析), 立题较好, 有一定的临床参考及学术价值.

in human esophageal squamous cell carcinoma. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 205-208 [PMID: 12532432]
3 Xu SH, Qian LJ, Mou HZ, Zhu CH, Zhou XM, Liu XL, Chen Y, Bao WY. Difference of gene expression profiles between esophageal carcinoma and its pericancerous epithelium by gene chip. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 417-422 [PMID: 12632488]
4 Chen H, Wang LD, Guo M, Gao SG, Guo HQ, Fan ZM, Li JL. Alterations of p53 and PCNA in cancer and adjacent tissues from concurrent carcinomas of the esophagus and gastric cardia in the same patient in Linzhou, a high incidence area for esophageal cancer in northern China. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 16-21 [PMID: 12508343]
5 Wu CM, Huang TH, Xie QD, Wu DS, Xu XH. Expression properties of recombinant pEgr-P16 plasmid in esophageal squamous cell carcinoma induced by ionizing irradiation. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2650-2653 [PMID: 14669305]
6 Xu H, Tanimoto A, Murata Y, Kimura S, Wang KY, Sasaguri Y. Difference in responsiveness of human esophageal squamous cell carcinoma lines to epidermal growth factor for MMP-7 expression. *Int J Oncol* 2003; 23: 469-476 [PMID: 12851697]
7 Guo WJ, Li J, Ling WL, Bai YR, Zhang WZ, Cheng YF, Gu WH, Zhuang JY. Influence of hepatic arterial blockage on blood perfusion and VEGF, MMP-1 expression of implanted liver cancer in rats. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 476-479 [PMID: 12046073]
8 Hou L, Li Y, Jia YH, Wang B, Xin Y, Ling MY, Lü S. Molecular mechanism about lymphogenous metastasis of hepatocarcinoma cells in mice. *World J Gastroenterol* 2001; 7: 532-536 [PMID: 11819823]
9 Jiang YF, Yang ZH, Hu JQ. Recurrence or metastasis of HCC: predictors, early detection and experimental antiangiogenic therapy. *World J Gastroenterol* 2000; 6: 61-65 [PMID: 11819524]
10 Kato H, Tachimori Y, Watanabe H, Igaki H, Nakanishi Y, Ochiai A. Recurrent esophageal carcinoma after esophagectomy with three-field lymph node dissection. *J Surg Oncol* 1996; 61: 267-272 [PMID: 8627996]
11 张兆祥. 食管癌淋巴结转移的研究进展. 中国肿瘤临床 2004; 31: 416-419
12 王洲, 刘相燕, 刘凡英, 陈景寒. 食管癌淋巴结微转移的诊断及预后的前瞻性研究. 世界华人消化杂志 2004; 12: 121-124
13 Siewert JR, Stein HJ, Feith M, Bruecher BL, Bartels H, Fink U. Histologic tumor type is an independent prognostic parameter in esophageal cancer: lessons from more than 1,000 consecutive resections at a single center in the Western world. Ann Surg 2001; 234: 360-367; discussion 368-369 [PMID: 11524589 DOI: 10.1097/00000658-200109000-00010]
14 张合林, 何明, 孟宪利, 白世祥, 平育敏, 杜喜群. 1146例胸段食管癌淋巴结转移的相关因素. 中国肿瘤临床 2007; 34: 650-652
15 冯庆来, 尚淑艳, 赵锡江. 胸段食管癌淋巴结转移规律的探讨. 中国肿瘤临床 2005; 32: 706-708
16 刘海峰, 赵松. 胸段食管癌淋巴结转移度与临床病理因素相关性分析. 中国现代手术学杂志 2006; 10: 127-129
17 Rice TW, Zuccaro G, Adelstein DJ, Rybicki LA, Blackstone EH, Goldblum JR. Esophageal carcinoma: depth of tumor invasion is predictive of regional lymph node status. *Ann Thorac Surg* 1998; 65: 787-792 [PMID: 9527214 DOI: 10.1016/S0003-4975(97)01387-8]
18 Gotohda N, Nishimura M, Yoshida J, Nagai K, Tanaka N. The pattern of lymphatic metastases in superficial squamous cell carcinoma of the esophagus. *Hepatogastroenterology* 2005; 52: 105-107 [PMID: 15783006]
19 Li H, Zhang Y, Cai H, Xiang J. Pattern of lymph node metastases in patients with squamous cell carcinoma of the thoracic esophagus who underwent three-field lymphadenectomy. *Eur Surg Res* 2007; 39: 1-6 [PMID: 17106199 DOI: 10.1159/000096925]

编辑 田滢 电编 闫晋利

世界华人消化杂志 2013年6月8日; 21(16): 1549-1553
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

内毒素和内皮素-1与急性胰腺炎患者并发急性肾损伤的关系

黄华兰, 聂 鑫, 吴 斌, 贺 勇, 宋昊岚, 罗通行, 高宝秀, 李贵星

黄华兰, 聂鑫, 吴斌, 贺勇, 宋昊岚, 罗通行, 高宝秀, 李贵星, 四川大学华西医院实验医学科 四川省成都市 610041
黄华兰, 硕士, 主要从事肝肾疾病发病机制的研究.
四川省科技支撑基金资助项目, No. 2010SZ0252
作者贡献分布: 此课题由李贵星设计; 研究过程由黄华兰、聂鑫、吴斌及贺勇操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由宋昊岚、罗通行及高宝秀提供; 数据分析由李贵星、黄华兰及聂鑫完成; 本论文写作由黄华兰完成.
通讯作者: 李贵星, 副教授, 610041, 四川省成都市外南国学巷37号, 四川大学华西医院实验医学科. liguixing27@163.com
电话: 028-85422615
收稿日期: 2013-03-22 修回日期: 2013-04-15
接受日期: 2013-04-27 在线出版日期: 2013-06-08

Association of endotoxin and endothelin-1 with acute kidney injury in patients with acute pancreatitis

Hua-Lan Huang, Xin Nie, Bin Wu, Yong He, Hao-Lan Song, Tong-Xing Luo, Bao-Xiu Gao, Gui-Xing Li

Hua-Lan Huang, Xin Nie, Bin Wu, Yong He, Hao-Lan Song, Tong-Xing Luo, Bao-Xiu Gao, Gui-Xing Li, Department of Laboratory Medicine, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China
Supported by: the Supporting Program of Department of Science and Technology of Sichuan Province, No. 2010SZ0252
Correspondence to: Gui-Xing Li, Associate Professor, Department of Laboratory Medicine, West China Hospital, Sichuan University, 37 Wainan Guoxuexiang, Chengdu 610041, Sichuan Province China. liguixing27@163.com
Received: 2013-03-22 Revised: 2013-04-15
Accepted: 2013-04-27 Published online: 2013-06-08

Abstract

AIM: To investigate the association of endotoxin and endothelin-1 with acute kidney injury in patients with acute pancreatitis (AP).

METHODS: Fifty-two AP patients with acute kidney injury and equal number of AP patients without acute kidney injury were enrolled in this study. Blood samples were obtained from all patients for laboratory analysis of liver function, renal function, electrolytes, procalcitonin (PCT) and endothelin-1 (ET-1).

RESULTS: The SIRS score showed no significant difference between cases and controls (2.66 ± 0.86 *vs* 2.30 ± 1.00, t = 1.90, P > 0.05), indicating that both groups suffered from systemic inflammatory response. The levels of PCT (23.24 ng/mL *vs* 0.23 ng/mL, Z = -7.31, P < 0.05) , ET-1 (7.61 pg/mL ± 2.17 pg/mL *vs* 2.34 pg/mL ± 1.28 pg/mL, t = 4.98, P < 0.05), urea (Z = -2.17), creatinine (Z = -7.69) and cystatin C (Z = -8.39) were significantly higher in cases than in controls. The mortality and improvement rates also differed significantly between cases and controls (36.5% *vs* 5.8%; 21.2% *vs* 94.2%, χ^2 = 141.92, P < 0.05).

CONCLUSION: Endotoxin and ET-1 are closely associated with the development of acute kidney injury possibly by inducing severe renal vasoconstriction.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Endotoxemia; Procalcitonin; Endothelin-1; Acute pancreatitis; Acute kidney injury

Huang HL, Nie X, Wu B, He Y, Song HL, Luo TX, Gao BX, Li GX. Association of endotoxin and endothelin-1 with acute kidney injury in patients with acute pancreatitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(16): 1549-1553
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1549.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1549

摘要

目的: 探讨内毒素和内皮素-1(endothelin-1, ET-1)与急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)患者并发急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)的关系.

方法: 纳入我院2011-01/2012-07 AP并发AKI住院患者52例(病理组)与同期AP无AKI住院患者52例(对照组), 收集研究对象临床资料, 计算全身炎症反应(systemic inflammatory response, SIRS)评分, 并采集血液分析两组生化指标、白细胞计数、降钙素原(procalcitonin, PCT)和ET-1水平. 分析比较两组的临床资料和实验室结果.

■**背景资料**
急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是临床上常见的一种急腹症, 尤其是重症急性胰腺炎, 常并发多器官功能损伤, 包括肾脏、心血管系统等, 其中急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)是AP患者的一种致死性并发症, 其死亡率达74.3%.

■**同行评议者**
李国威, 教授, 西安交通大学医学院第二附属医院普通外科

■研发前沿
有效循环血容量不足、肾血流动力学障碍是AP患者发生AKI主要的原因, 但AKI发生的确切机制尚未完全阐明.

结果: 病理组SIRS评分为2.66±0.86, 对照组为2.30±1.00, 两组均存在全身炎症反应, 但差异无统计学意义(t = 1.90, P>0.05). 病理组PCT和ET-1分别为23.24 ng/mL(9.99 ng/mL, 70.44 ng/mL)和7.61 pg/mL±2.17 pg/mL, 高于对照组的0.23 ng/mL(0.11 ng/mL, 0.61 ng/mL)(Z = -7.31, P<0.05)和2.34 pg/mL±1.28 pg/mL(t = 4.98, P<0.05). 病理组尿素、肌酐、血胱抑素C分别为19.75 mmol/L(13.44 mmol/L, 25.75 mmol/L)、344.0 mmol/L(281.8 mmol/L, 450.8 mmol/L)、3.09 μmol/L(2.43 μmol/L, 4.11 μmol/L), 高于对照组4.48 mmol/L(3.45 mmol/L, 7.48 mmol/L)、49.4 mmol/L(43.8 mmol/L, 70.6 mmol/L)、0.86 μmol/L(0.69 μmol/L, 1.02 μmol/L)(Z值分别为-7.69、-8.39和-8.31, P<0.05). 病理组和对照组死亡率分别为36.5%和5.8%, 好转率分别为21.2%和94.2%(χ^2 = 141.92, P<0.05).

结论: 内毒素诱导ET-1表达增加, ET-1强烈收缩肾血管引发肾灌注不足, 导致AP患者并发AKI. 内毒素和ET-1与AP患者并发AKI关系密切.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 内毒素血症; 降钙素原; 内皮素-1; 急性胰腺炎; 急性肾损伤

核心提示: 内毒素诱导内皮素-1(endothelin-1, ET-1)表达增加, ET-1强烈收缩肾血管引发肾灌注不足, 导致急性胰腺炎(acute pancreatitis)患者并发急性肾损伤(acute kidney injury).

黄华兰, 聂鑫, 吴斌, 贺勇, 宋昊岚, 罗通行, 高宝秀, 李贵星. 内毒素和内皮素-1与急性胰腺炎患者并发急性肾损伤的关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(16): 1549-1553 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1549.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1549

0 引言

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是临床上常见的一种急腹症, 尤其是重症急性胰腺炎, 常并发多器官功能损伤, 包括肾脏、心血管系统等, 其中急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)是AP患者的一种致死性并发症, 其死亡率达74.3%. 国内外研究认为[1-3]: 有效循环血容量不足、肾血流动力学障碍是AP患者发生AKI主要原因, 但AKI发生的确切机制尚未完全阐明. 近年来, 流行病学调查显示脓毒血症是院内AKI发生的主要原因, 其可能的机制是通过内毒素及其介导的系列反应引发AKI[4]. 内毒素可引起内皮素(endothelin, ET)表达[5,6], 其中ET-1是目前已知体内最强缩血管因子, 其受体在肾血管广泛存在. 为探讨AP患者发生AKI是否通过内毒素及其介导的ET-1引起, 本文通过对AP并发AKI患者的临床资料、实验室指标、降钙素原(procalcitonin, PCT)和ET-1水平进行分析, 探讨了内毒素和ET-1与AP并发AKI的关系.

■相关报道
近年来, 流行病学调查显示脓毒血症是院内AKI发生的主要原因.

1 材料和方法

1.1 材料 纳入我院2011-01/2012-07住院的重症AP患者305例, 其中并发AKI患者52例(病理组), 未出现AKI患者253例, 从中随机选取52例患者作为对照组. AP诊断以亚特兰大会议共识意见为准[7,8]; 本研究AKI诊断标准为48 h内血清肌酐水平升高超过50%. 排除标准为: AP患者入院时肾功能不正常、心功能不全及有各种出血患者, 慢性胰腺炎患者不纳入本研究.

1.2 方法 对纳入的研究对象按内科标准化治疗方案治疗, 同时密切追踪观察患者. 当患者出现肾功能障碍并符合AKI诊断时, 记录患者的心率、呼吸频率和体温, 计算全身炎症反应(systemic inflammatory response, SIRS)评分. SIRS评分标准为: (1)体温≥38.0 ℃或<36.0 ℃; (2)心率>90次/min; (3)呼吸频率>20次/min或二氧化碳分压($PaCO_2$)<32 mmHg; (4)外周血白细胞计数≥12×10^9/L或<4×10^9/L或未成熟白细胞>10%. 同时采集患者空腹静脉血4管, 包括无添加剂3管用于生化指标、PCT和ET-1的检查, EDTA抗凝血1管用于白细胞(white blood cell, WBC)计数. 采用德国罗氏公司Modular-P800全自动生化分析仪测定生化指标; 采用日本Sysmex XE 2100全自动血液分析仪测定WBC; 采用德国Roche公司Cobas E170化学发光分析仪测定PCT. 在本研究中用PCT水平反映患者血液内毒素水平; ET-1检测采用美国Enzo Life Sciences有限公司Endothelin-1 ELISA kit进行分析. 本实验室通过美国病理学家协会(College of American Pathologists, CAP)实验室认可, 所有分析指标均通过美国病理学家协会的能力验证(proficiency testing, PT).

统计学处理 采用SPSS17.0软件分析, 计数资料采用χ^2检验, 正态分布计量资料采用mean±SD表示, 组间比较采用成组资料的t检验, 非正态分布计量资料采用中位数(P25, P75)表示, 组间比较采用Wilcoxon秩和检验, P<0.05为差异有统计学意义.

表 1 病理组和对照组一般资料比较

	总体	病理组	对照组	χ^2或t值	P值
n	104	52	52		
年龄(岁)	49.9 ± 16.0	50.9 ± 15.9	48.6 ± 16.2	0.68	0.50
性别				3.51	0.06
男	69	39	30		
女	35	13	22		
全身炎症反应	2.51 ± 0.92	2.66 ± 0.86	2.30 ± 1.00	1.90	0.06
呼吸	26 ± 7	28 ± 8	24 ± 5		
脉搏	118 ± 24	127 ± 23	106 ± 19		
体温	37.8 ± 1.0	37.9 ± 1.2	37.7 ± 0.7		
白细胞计数	13.9 ± 8.5	12.7 ± 8.0	15.5 ± 9.0		
病情转归n(%)				141.92	0.00[a]
死亡	22	19(36.5)	3(5.8)		
自动出院	22	22(42.3)	0		
好转	60	11(21.2)	49(94.2)		

[a]P<0.05 *vs* 对照组.

表 2 病理组和对照组实验室指标比较

	总体	病理组	对照组	Z值	P值
n	104	52	52		
尿素(mmol/L)	11.30(5.36,22.27)	19.75(13.44,25.75)	4.48(3.45,7.48)	−7.69	0.00[a]
肌酐(mmol/L)	248.0(56.5,355.3)	344.0(281.8,450.8)	49.4(43.8,70.6)	−8.39	0.00[a]
胱抑素-C(μmol/L)	2.16(0.89,3.42)	3.09(2.43,4.11)	0.86(0.69,1.02)	−8.31	0.00[a]

[a]P<0.05 *vs* 对照组.

表 3 病理组与对照组降钙素原和内皮素-1水平比较

	总体	病理组	对照组	Z值或t值	P值
n	104	52	52		
降钙素原(ng/mL)	3.15(0.21,23.00)	23.24(9.99,70.44)	0.23(0.11,0.61)	Z = −7.31	0.00[a]
内皮素-1(pg/mL)	5.03 ± 2.01	7.61 ± 2.17	2.34 ± 1.28	t = 4.98	0.00[c]

[a]P<0.05, [c]P<0.05 *vs* 对照组.

2 结果

2.1 一般资料 病理组和对照组一般资料比较见表1. 两组患者年龄、性别、SIRS评分差异无显著性(P>0.05); 病理组和对照组的死亡率分别为36.5%和5.8%, 好转率分别为21.2%和94.2%, 两组患者的病情转归存在明显差异(χ^2 = 141.92, P<0.05).

2.2 两组患者实验室指标比较 两组肾功能指标比较显示: 病理组尿素、肌酐、血清胱抑素C高于对照组(Z值分别为: -7.69、-8.39和-8.31, P<0.05)(表2).

2.3 两组患者PCT和ET-1水平比较 病理组患者PCT为23.24 ng/mL(9.99 ng/mL、70.44 ng/mL), 高于对照组0.23 ng/mL(0.11 ng/mL、0.61 ng/mL)(Z = -7.31, P<0.05). 病理组患者ET-1为7.61 pg/mL±2.17 pg/mL, 高于对照组的2.34 pg/mL±1.28 pg/mL(t = 4.98, P<0.05)(表3).

3 讨论

AP是临床上常见的疾病, 其发病率为61-288/10万. AP患者并发多种胰外器官损伤, 其胰外器官损伤中肾功能障碍发生率仅次于肺功能障碍,

■创新盘点

内毒素可能通过TLR4-NF-κB通路过度表达内皮素-1, 后者通过收缩肾脏系膜细胞和平滑肌细胞, 使肾脏血流严重灌注不足, 引发AKI.

■应用要点

积极预防感染、保持肠道功能正常, 减少肠内毒素的产生和吸收, 从而阻止内毒素血症的发生是预防AP患者发生AKI的关键.

■名词解释
急性肾损伤: 急性肾损伤是一组临床综合征,以短期内(数时至数天)肾功能急剧下降、含氮代谢产物(血肌酐和尿素氮等)积聚为特征, 表现为氮质血症、水电解质和酸碱平衡紊乱以及全身各系统症状, 可伴有少尿或无尿.

大约在14%-43%. 本次实验研究AP患者305例, 其中并发AKI患者52例, AP并发AKI的发生率为17%. 病理组和对照组的死亡率分别为36.5%和5.8%, 好转率分别为21.2%和94.2%. 研究结果显示: AP患者发生AKI后预后较差, 死亡率高, 因此有必要深入研究AP并发AKI的机制, 从而阻止AKI的发生. 本研究结果显示: 病理组与对照组SIRS评分均超过2分, 表明两组患者都存在全身炎症反应综合征, 对照组患者存在SIRS也没有发生AKI, 同时发现两组SIRS结果比较差异无显著性(P>0.05), 表明SIRS与AP并发AKI关系不密切.

据文献报道[9], 约42%脓毒血症患者并发不同程度AKI. AP患者尤其是SAP患者肠黏膜屏障的保护机制易遭到破坏, 肠黏膜的通透性增加, 从而导致机体发生肠源性细菌(尤其是革兰阴性细菌)感染, 内毒素的实质是革兰阴性细菌细胞壁中的脂多糖, 他可通过肠黏膜屏障进入门静脉, 从而发生肠源性内毒素血症[10,11]. PCT是降钙素(calcitonin, CT)的前体. 在正常情况下由甲状腺C细胞产生, 并在细胞内经过特异性蛋白水解过程生成降钙素. 正常人血清PCT水平低于0.05 ng/mL[12], 在内毒素的刺激下, 机体多种细胞和器官均可表达PCT, 由于这些细胞缺乏特异性蛋白水解酶, PCT不能降解为CT, 从而血液中PCT出现升高, PCT水平可代表内毒素水平[13-15]. 本研究发现病理组PCT水平明显高于对照组(P<0.05), 结果表明AKI患者体内存在高浓度的内毒素. 病理组ET-1水平明显高于对照组组(P<0.05), ET-1是迄今为止体内发现的最强烈的血管收缩因子, 肾小球系膜细胞、血管平滑肌细胞等存在高密度ET-1受体, ET-1与其受体结合导致肾血流量减少, 引发AKI[16]. 内毒素是ET-1最强烈的刺激剂, 内毒素血症可以导致体内ET-1水平升高[17], 其可能机制是内毒素通过Toll样受体4(toll like receptor 4, TLR4)介导核因子κB(nuclear factor κB, NF-κB)途径引发AKI[18]. TLR4是介导内毒素信号跨膜传导主要受体[19], 而NF-κB是一种广泛存在于组织细胞胞质中的具有多向性转录调节的细胞因子, 能与多种基因启动子特异性结合并增强该基因的转录[20]. 内毒素与TLR4结合后在辅助分子CD14和MD-2等的介导下激活NF-κB, 活化的NF-κB发生易位与其胞核内目的基因启动子或增强子上的κB位点特异性结合, 启动和调控因子的表达, 从而释放大量ET-1, ET-1通过强烈收缩肾血管的作用, 引起肾血流灌注不足, 从而导致AKI的产生.

总之, 内毒素和ET-1与AP患者并发AKI密切相关. 内毒素通过TLR4-NF-κB通路过度表达ET-1, 后者通过收缩肾脏系膜细胞和平滑肌细胞, 使肾脏血流严重灌注不足, 引发AKI. 因此, 积极预防感染、保持肠道功能正常减少肠内毒素的产生和吸收, 从而阻止内毒素血症的发生是预防AP患者发生AKI的关键. 此外, 有必要深入研究内毒素-TLR4-NF-κB-ET-1通路和AKI发生的关系, 探讨AKI发生的分子机制, 为阻止和治疗AP并发AKI提供理论基础.

4 参考文献

1 Zhang XP, Wang L, Zhou YF. The pathogenic mechanism of severe acute pancreatitis complicated with renal injury: a review of current knowledge. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 297-306 [PMID: 17597411 DOI: 10.1007/s10620-007-9866-5]
2 Malleo G, Mazzon E, Siriwardena AK, Cuzzocrea S. TNF-alpha as a therapeutic target in acute pancreatitis--lessons from experimental models. *Scientific-WorldJournal* 2007; 7: 431-448 [PMID: 17450307 DOI: 10.1100/tsw.2007.98]
3 Li H, Qian Z, Liu Z, Liu X, Han X, Kang H. Risk factors and outcome of acute renal failure in patients with severe acute pancreatitis. *J Crit Care* 2010; 25: 225-229 [PMID: 19781906 DOI: 10.1016/j.jcrc.2009.07.009]
4 El-Achkar TM, Hosein M, Dagher PC. Pathways of renal injury in systemic gram-negative sepsis. *Eur J Clin Invest* 2008; 38 Suppl 2: 39-44 [PMID: 18826480 DOI: 10.1111/j.1365-2362.2008.02007.x]
5 Andersson A, Fenhammar J, Weitzberg E, Sollevi A, Hjelmqvist H, Frithiof R. Endothelin-mediated gut microcirculatory dysfunction during porcine endotoxaemia. *Br J Anaesth* 2010; 105: 640-647 [PMID: 20710019 DOI: 10.1093/bja/aeq217]
6 Jesmin S, Yamaguchi N, Zaedi S, Nusrat Sultana S, Iwashima Y, Sawamura A, Gando S. Time-dependent expression of endothelin-1 in lungs and the effects of TNF-α blocking peptide on acute lung injury in an endotoxemic rat model. *Biomed Res* 2011; 32: 9-17 [PMID: 21383506]
7 Bollen TL, van Santvoort HC, Besselink MG, van Leeuwen MS, Horvath KD, Freeny PC, Gooszen HG. The Atlanta Classification of acute pancreatitis revisited. *Br J Surg* 2008; 95: 6-21 [PMID: 17985333 DOI: 10.1002/bjs.6010]
8 Zaheer A, Singh VK, Qureshi RO, Fishman EK. The revised Atlanta classification for acute pancreatitis: updates in imaging terminology and guidelines. *Abdom Imaging* 2013; 38: 125-136 [PMID: 22584543 DOI: 10.1007/s00261-012-9908-0]
9 Bagshaw SM, George C, Bellomo R. Early acute kidney injury and sepsis: a multicentre evaluation. *Crit Care* 2008; 12: R47 [PMID: 18402655 DOI: 10.1186/cc6863]
10 刘晓臣, 彭燕. 肠屏障功能障碍与重症急性胰腺炎. 世界华人消化杂志 2006; 14: 3131-3135
11 Zhang J, Yuan C, Hua G, Tong R, Luo X, Ying Z. Early gut barrier dysfunction in patients with severe acute pancreatitis: attenuated by continuous blood purification treatment. *Int J Artif Organs*

2010; 33: 706-715 [PMID: 21077043 DOI: 10.1097/MPA.0b013e31815a399f]
12 Harbarth S, Holeckova K, Froidevaux C, Pittet D, Ricou B, Grau GE, Vadas L, Pugin J. Diagnostic value of procalcitonin, interleukin-6, and interleukin-8 in critically ill patients admitted with suspected sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 396-402 [PMID: 11500339 DOI: 10.1164/ajrccm.164.3.2009052]
13 Zannoni A, Giunti M, Bernardini C, Gentilini F, Zaniboni A, Bacci ML, Forni M. Procalcitonin gene expression after LPS stimulation in the porcine animal model. *Res Vet Sci* 2012; 93: 921-927 [PMID: 22001598 DOI: 10.1016/j.rvsc.2011.09.011]
14 Endo S, Aikawa N, Fujishima S, Sekine I, Kogawa K, Yamamoto Y, Kushimoto S, Yukioka H, Kato N, Totsuka K, Kikuchi K, Ikeda T, Ikeda K, Yamada H, Harada K, Satomura S. Usefulness of procalcitonin serum level for the discrimination of severe sepsis from sepsis: a multicenter prospective study. *J Infect Chemother* 2008; 14: 244-249 [PMID: 18574663 DOI: 10.1007/s10156-008-0608-1]
15 de Kruif MD, Lemaire LC, Giebelen IA, Struck J, Morgenthaler NG, Papassotiriou J, Elliott PJ, van der Poll T. The influence of corticosteroids on the release of novel biomarkers in human endotoxemia. *Intensive Care Med* 2008; 34: 518-522 [PMID: 18080111 DOI: 10.1007/s00134-007-0955-x]
16 Fenhammar J, Andersson A, Forestier J, Weitzberg E, Sollevi A, Hjelmqvist H, Frithiof R. Endothelin receptor A antagonism attenuates renal medullary blood flow impairment in endotoxemic pigs. *PLoS One* 2011; 6: e21534 [PMID: 21760895 DOI: 10.1371/journal.pone.0021534]
17 Divino JN, Chawla KS, da Silva CM, Bjorge AM, Brittingham A. Endothelin-1 production by the canine macrophage cell line DH82: enhanced production in response to microbial challenge. *Vet Immunol Immunopathol* 2010; 136: 127-132 [PMID: 20207425 DOI: 10.1016/j.vetimm.2010.02.006]
18 Hoshino K, Takeuchi O, Kawai T, Sanjo H, Ogawa T, Takeda Y, Takeda K, Akira S. Cutting edge: Toll-like receptor 4 (TLR4)-deficient mice are hyporesponsive to lipopolysaccharide: evidence for TLR4 as the Lps gene product. *J Immunol* 1999; 162: 3749-3752 [PMID: 10201887]
19 Sawa H, Ueda T, Takeyama Y, Yasuda T, Shinzeki M, Nakajima T, Kuroda Y. Role of toll-like receptor 4 in the pathophysiology of severe acute pancreatitis in mice. *Surg Today* 2007; 37: 867-873 [PMID: 17879036 DOI: 10.1007/s00595-007-3520-x]
20 Rakonczay Z, Hegyi P, Takács T, McCarroll J, Saluja AK. The role of NF-kappaB activation in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Gut* 2008; 57: 259-267 [PMID: 17675325 DOI: 10.1136/gut.2007.124115]

编辑 田滢 电编 闫晋利

■同行评价
本文学术水平较高, 具有一定临床指导意义.

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》栏目设置

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

世界华人消化杂志 2013年6月8日; 21(16): 1554-1558
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

超声造影在急性胰腺炎脾血管并发症诊断中的价值

蔡迪明, 罗 燕, 李永忠, 万晋州, 张刚健, 陈 娟, 曾 聪, 宋 彬

■背景资料
超声造影(contrast enhanced ultrasound, CEUS)研究急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)已经较为成熟, SAP血管并发症在增强CT检查中经常被诊断, 但CEUS在此方面的情况则很少提及, 为了完善CEUS AP的诊断而设计了此研究.

蔡迪明, 罗燕, 李永忠, 万晋州, 张刚健, 陈娟, 曾聪, 四川大学华西医院超声科 四川省成都市 610041
宋彬, 四川大学华西医院放射科 四川省成都市 610041
蔡迪明, 主要从事腹部、血管及小器官的超声检查与诊断.
作者贡献分布: 蔡迪明与宋彬对此文所作贡献均等; 此研究由蔡迪明、宋彬、罗燕及李永忠设计; 研究过程由蔡迪明、罗燕、李永忠及万晋州操作完成; 数据分析由蔡迪明、张刚健、陈娟及曾聪完成; 本论文写作由蔡迪明、宋彬及罗燕完成.
通讯作者: 宋彬, 教授, 610041, 四川省成都市国学巷37号, 四川大学华西医院放射科. cjr.songbin@vip.163.com
电话: 028-85422304 传真: 028-85423196
收稿日期: 2013-04-02 修回日期: 2013-04-16
接受日期: 2013-04-27 在线出版日期: 2013-06-08

Diagnostic value of contrast-enhanced ultrasound in detection of splenic vascular complications of acute pancreatitis

Di-Ming Cai, Yan Luo, Yong-Zhong Li, Jin-Zhou Wan, Gang-Jian Zhang, Juan Chen, Cong Zeng, Bin Song

Di-Ming Cai, Yan Luo, Yong-Zhong Li, Jin-Zhou Wan, Gang-Jian Zhang, Juan Chen, Cong Zeng, Department of Sonography, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China
Bin Song, Department of Radiology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China
Correspondence to: Bin Song, Professor, Department of Radiology, West China Hospital, Sichuan University, 37 Guoxuexiang, Chengdu 610041, Sichuan Province, China. cjr.songbin@vip.163.com
Received: 2013-04-02 Revised: 2013-04-16
Accepted: 2013-04-27 Published online: 2013-06-08

Abstract

AIM: To evaluate the diagnostic value of contrast-enhanced ultrasound (CEUS) in the detection of splenic vascular complications of acute pancreatitis (AP).

METHODS: One hundred and twelve patients with AP treated at our hospital from January 2012 to December 2012 were included in this study. All patients underwent color Doppler ultrasound (CDUS), CEUS and contrast-enhanced computed tomography (CECT). CECT was considered as the gold standard for the diagnosis of splenic vascular complications of AP, and findings of CDUS or CEUS were compared with those of CECT. The diagnostic accuracy of different modalities was compared.

RESULTS: Splenic vascular complications were diagnosed by CECT in 15 patients, by CDUS in 3 patients, and by CEUS in 10 patients.

CONCLUSION: CEUS is superior to CDUS in the diagnosis of splenic vascular complications of AP in terms of diagnostic accuracy. CEUS is a good alternative to CECT in the diagnosis of splenic vascular complications of AP.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Pancreatitis contrast; Contrast-enhanced ultrasound; Spleen; Vascular; Complications

Cai DM, Luo Y, Li YZ, Wan JZ, Zhang GJ, Chen J, Zeng C, Song B. Diagnostic value of contrast-enhanced ultrasound in detection of splenic vascular complications of acute pancreatitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(16): 1554-1558 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1554.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1554

摘要

目的: 探讨急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)发生脾血管并发症时超声及超声造影(contrast enhanced ultrasound, CEUS)诊断价值.

方法: 收集2012-01/2012-12在我院住院的AP患者112例, 分别进行常规彩色多普勒超声(color Doppler ultrasound, CDUS)、超声造影(contrast enhanced ultrasound, CEUS)以及上腹部增强CT的检查(contrast-enhanced computed tomography, CECT), 以CECT结果作为金标准, 对比CDUS和CEUS对于诊断脾血管并发症的准确性.

结果: 经CECT证实15例胰腺炎发生脾血管并发症, CDUS诊断3例, CEUS诊断10例.

结论: 对于AP的脾血管并发症CEUS优于CDUS, 能够较为准确、无创的诊断脾血管并发症. CEUS对于AP并发症的诊断是一种有效

■同行评议者
杨建民, 教授, 浙江省人民医院消化内科

的方法, 特别是在患者不适合进行CECT检查的时候.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 胰腺炎; 超声造影; 脾; 血管; 并发症

核心提示: 胰腺炎脾血管并发症对胰腺炎诊断与治疗中都有重要意义. 本文利用超声造影(contrast enhanced ultrasound, CEUS)判断胰腺炎时是否发生脾血管并发症, 操作简单易行, 是进行胰腺炎CEUS时一种非常有益的补充.

蔡迪明, 罗燕, 李永忠, 万晋州, 张刚健, 陈娟, 曾聪, 宋彬. 超声造影在急性胰腺炎脾血管并发症诊断中的价值. 世界华人消化杂志 2013; 21(16): 1554-1558 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1554.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1554

0 引言

胰腺炎时脾血管并发症是胰腺炎时的较为罕见并发症, 常发生于重症胰腺炎和胰腺炎反复发作时, 而常规彩色多普勒超声(color Doppler ultrasound, CDUS)检查时常常由于受肠道麻痹致腹胀明显、腹膜后血管彩色血流衰减等因素影响, 导致CDUS对于脾血管并发症的诊断存在一定困难, 且与增强CT的结果相差较大, 因而报道也相对较少[1]. 本研究尝试利用超声造影(contrast enhanced ultrasound, CEUS)的方法, 在对胰腺炎造影检查时, 加做脾脏的造影检查, 从而提高超声对胰腺炎并发脾脏血管病变的诊断水平.

1 材料和方法

1.1 材料 选取我院2012-01/2012-12因急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)住院患者112例, 其中男64例, 女48例, 平均年龄41.3岁. 所有病例均行上腹部增强CT的检查(contrast-enhanced computed tomography, CECT)(CT与超声检查间隔<72 h)、CDUS以及CDES检查, 以CECT结果作为金标准, 对比CDUS和CDES对于脾血管并发症诊断的准确性.

1.2 方法 采用GE LOGIQ E9及PHILIPS IU22, 探头频率2-5 MHz, 选用腹部条件设置, 彩色增益调至刚出现噪音之前为止. 用二维超声连续横切及纵切观察胰腺及脾脏大小、形态、包膜、内部回声、血流分布; 胰周、腹膜后积液情况; 脾动脉、脾静脉的管径、血流速度等参数进行测量, 取样时使声束与血流夹角<60度, 做好图像储存及记录工作. 造影时采用使用低机械指数造影条件进行检查. 超声医生在不知CT结果的情况下, 对患者进行CEUS检查脾脏及脾脏血管. 造影剂使用声洛维, 5 mL生理盐水溶解以后, 经肘正中静脉以剂量约1.2-2.4 mL团注, 观察脾脏实质内是否有增强的异常区域. 脾实质内发现异常增强区域时, 对脾动脉沿着其走行进行分段检查, 观察脾动脉、静脉的增强情况. 可重复注射造影剂, 以尽最大可能清楚显示脾血管的各段.

2 结果

12例经CECT确诊的重症胰腺炎并发胰周血管并发症的患者中, 经CDUS检查诊断3例, 诊断准确率20%(3/15); 经CEUS诊断10例, 诊断准确率66.7%(10/15)(表1). 脾血管并发症具体分类见表2.

CEUS脾脏梗死灶多表现为楔形, 有时可呈不规则形, 内无血流信号分布; 脾脏CDUS表现为单一或是多发的等回声或稍低回声, CEUS后该区域内无造影剂增强(图1), 或呈现较周围实质低增强的灌注异常区域(图2); 脾脏包膜下积液则表现为脾包膜下无回声或低回声, 其内无造影剂进入而无增强(图3). 本组病例7例发生脾动脉栓塞, 常规彩超诊断0例, 而通过CEUS诊断脾动脉栓塞4例, 而本组中脾动脉瘤5例, CDUS诊断0例, CEUS诊断0例; 脾梗死7例, CDUS诊断1例, CEUS诊断4例. 究其原因, 本组病例脾动脉瘤体积都较小, 最大仅1 cm, 由于脾动脉解剖的特殊性, 超声直接显示比较困难, 故而CEUS时也未能准确诊断. 本组病例CEUS诊断脾动脉栓塞均是建立在诊断脾梗死基础之上, 故而诊断4例.

脾静脉狭窄时, CDUS表现为管腔内可见减弱回声部分充填, 血流信号表现为充盈缺损, 血流束纤细. 脾静脉栓塞或闭塞时, 栓塞表现为脾静脉内有异常回声完全充填, 管腔内无血流信号显示. 闭塞时脾静脉的管腔、管壁消失. 脾静脉的狭窄CEUS表现: 脾静脉管腔内造影剂仅呈细线状增强, 可见明显充盈缺损(图4), 脾静脉栓塞则表现管腔内无造影剂增强(图5). 静脉闭塞则表现为解剖位置区的脾静脉内无造影剂增强(图6). 本组病例脾静脉栓塞7例, 常规多普勒超声诊断3例, CEUS诊断5例; 本组病例胰源性门静脉高压7例, 常规多普勒超声诊断1例, CEUS诊断5例.

3 讨论

CECT被公认为AP诊断的金标准[2,3], 能反映胰腺

■研发前沿
CEUS对于重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)诊断, 能够得到类似增强CT的作用, 而CEUS没有肝肺毒性, 无辐射、床旁、反复多次都能检查, 越来越受到临床重视, 但受制于腹腔胀气, 超声对于部分胰腺炎显示不满意. 对于血管并发症也因常常受到腹内气体影响而检出率较低.

■相关报道
Rickes等于2006年率先将CEUS技术应用于胰腺炎, 并按照Balthazar'CT分级对CEUS后胰腺炎坏死程度评分, 并与CT结果比较, 对CEUS在胰腺炎诊断中的应用具有开创性的意义.

■创新盘点

本文利用脾脏CEUS, 通过脾脏灌注情况改变与否来推断胰腺炎时脾动脉是否受累. 通过脾静脉造影, 能增加医生对脾静脉狭窄、脾静脉栓塞的诊断信心. 操作方法简单易行, 能显著提高超声对脾血管病变的诊断率.

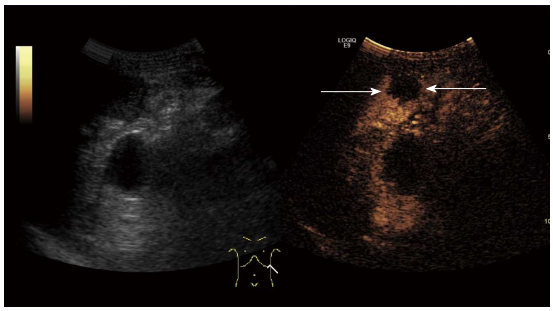


图 1 脾脏造影后无增强区(箭头所示).

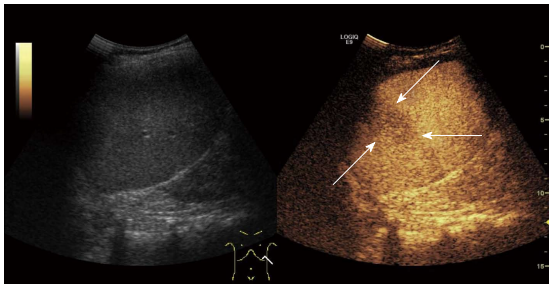


图 2 脾脏造影后实质内低增强区(箭头所示).

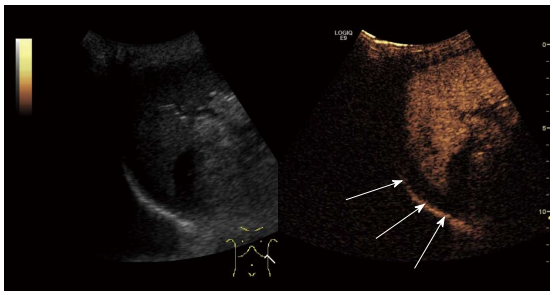


图 3 脾脏造影后, 脾包膜下无增强区(箭头所示).

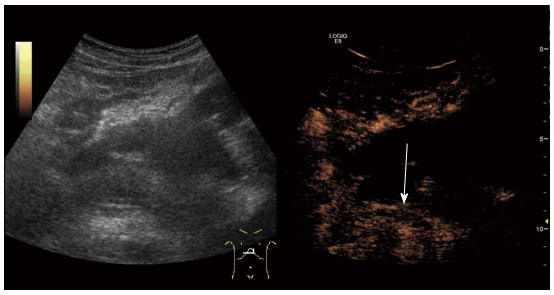


图 4 胰腺造影后, 脾静脉纤细呈细线状(箭头所示).

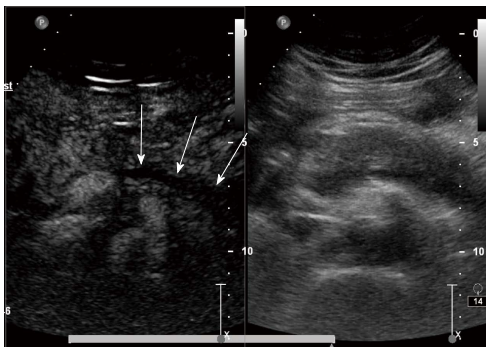


图 5 胰腺造影后, 脾静脉内无造影剂增强(箭头所示).

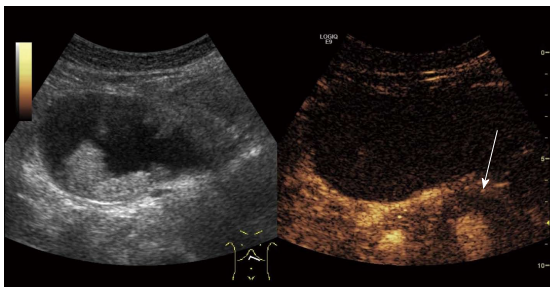


图 6 胰腺造影后, 脾静脉区未见脾静脉显示(箭头所示).

坏死情况、胰周血管情况等重要指标. 脾血管并发症是由于AP时胰酶激活对周围血管的直接消化侵蚀、血液高凝状态、DIC继发微血栓的形成、胰周脓肿压迫血管等原因引起. 胰腺炎脾血管并发症主要包括胰源性门静脉高压、脾梗死、脾静脉栓塞或闭塞、脾动脉栓塞、脾动脉瘤[4]. 脾血管并发症对于AP的分级、治疗都有重要的意义[5], 可以反映胰腺炎危重程度和监测治疗效果的评判.

CDUS是AP、胆道疾病检查的重要的影像检查方法[6], 但是对于胰腺炎脾血管并发症的诊断主要由于诸如腹部胀气等检查条件受限, 检查医生对该疾病的认识不足等原因都会增加超声对该病诊断的困难[7]. 患者需要进行CECT检查, 由于要注射碘增强剂, 对于碘剂过敏患者并不适用, 并且重症患者低血容量、肾功能不全者也是禁忌证, 而恰恰重症患者由于多器官功能衰竭往往会出现低血容量、肾功损害的临床表现, 此时在评估病情和疗效是就会发生困难[8,9]. 随着CEUS的出现, 国内外学者将CEUS应用于AP的诊断, 多篇文献报道了CEUS对于AP有积极意义[10,11]. 有学者甚至提出在不能进行CT检查时, AP CEUS检查可以代替CECT检查[12], 而CEUS作为血管检查的应用也已广泛地用于诸如肾动脉、颈动脉及其他部位的血管检查当中[13,14], 因此CEUS应用于胰腺炎脾血管并发症的检查是合适的.

根据脾脏的解剖, 脾脏是由脾动脉单一供血, 通过显示脾脏血供来反映脾动脉是否受累有理论依据. 而脾动脉是腹腔动脉中的最大分支, 在接近脾门处分出胃网膜左动脉和数支胃短动脉. 脾动脉在进入脾门前多先分为上、下两支, 或上、中、下三支, 再分为二级分支或三

表 1 3种方法诊断脾血管并发症的诊断结果 (n)

检查方法	脾血管并发症阳性	脾血管并发症阴性
常规彩色多普勒超声	3	109
超声造影	10	102
上腹部增强CT	15	97

表 2 3种方法诊断脾血管并发症的具体分类结果 (n)

脾血管并发症	常规彩色多普勒超声	超声造影	上腹部增强CT
脾动脉栓塞	0	4	7
脾静脉栓塞	3	5	7
脾静脉闭塞	0	1	1
脾动脉瘤[1]	0	0	5
脾梗死[1]	0	4	7
胰源性门静脉高压[1]	1	5	7

[1]脾动脉病变常合并脾动脉瘤、脾梗死, 脾静脉病变常合并胰源性门静脉高压.

级分支进入脾门. 由于脾动脉解剖及超声成像的特点, 清楚的脾动脉全程, 超声存在“先天”的困难, 究其原因在于急性胰腺炎时胃肠麻痹胀气, 超声受气体干扰很难显示胃肠后方的脾动脉, 因此超声对于脾动脉病变的直接显示存在困难[1]. 常规超声对于脾脏大的梗死灶可以清楚显示, 但对于小灶梗死或是仅仅出现血流灌注减少的改变而尚未发生梗死时存在诊断困难[15]. 而超声医生在检查胰腺炎时也往往忽视对于脾脏的观察, 且脾血管并发症在AP是属于低发病率, 以上原因造成了超声对于AP时的脾血管并发症罕有提及有无受累. 我们的方法是对脾脏的进行造影检查, 通过脾脏造影异常的有无, 间接反映脾动脉的血流有无异常改变, 如果有明显变化, 再依照脾动脉的走行尽量扫查清楚. 脾脏实质出现多灶梗死、楔形梗死、脾周积液等, 意味着脾动脉的血供出现异常, 均认为是脾动脉受累: 脾动脉栓塞或脾动脉狭窄. 脾脏疾病的CEUS, 国内外学者已经有了一定研究, 而CEUS对于脾脏的灌注异常, 早期梗死灶的检出CEUS可以作为首选方法[16]. 分析本组漏诊3例的原因, 2例是因为脾脏显示不完全, 梗死区刚好被肋骨遮挡未被显示出来, 1例是因为呼吸动度较大, 造影后梗死区发生移位被肋骨遮挡而漏诊.

脾静脉相对于脾动脉来讲检查相对容易一些, 特别是脾静脉胰腺段, 由于可以利用胰腺作为透声窗, 脾静脉的显示要优于脾动脉, 并且脾静脉病变通常在胰腺段受累, 所以相较于脾动脉病变, 脾静脉病变超声检出率要高些. 脾静脉狭窄表现为脾静脉内可见稍弱回声充填, 脾静脉栓塞表现为脾静脉管径增粗, 管腔内可见减弱回声充填, 彩色多普勒表现可见管腔内无或仅见细线状血流信号充盈. 而脾静脉闭塞表现为脾静脉管壁、管腔均显示不清, 管腔内亦见等回声, 与周围组织难以区分, 仅能从解剖上在相应位置寻找. 对该疾病如无充分认识, 就容易忽视闭塞静脉的存在. CEUS时受累脾静脉内仅见细线状增强或内部没有增强. 通过造影, 能增加医生的诊断信心, 对诊断有明显帮助.

脾静脉受累时多时会表现为脾脏的肿大, 并可引起胰源性门静脉高压症, 胃底静脉可见迂曲扩张. 分析本组病例漏诊原因, 脾静脉栓塞漏诊在于栓子较短, 位于胰尾区, 胰腺段脾静脉未受累而造成漏诊. 由于未发现脾静脉栓塞, 故而在检查胃底区域静脉是否曲张时不够仔细而漏诊, 这是在以后工作中要注意的.

总之, CEUS较CDUS对于胰腺炎脾血管并发症的诊断, 具有明显的诊断优势, 能够给检查医生带来更多的检查信息和增强诊的信心. CEUS操作方便、安全, 对于传统多普勒超声检查腹膜后血管的难题提供一种新的途径和方法, 而且超声造影剂没有肝肾毒性, 特别适用于肝肾功能受损的患者. 对于重症胰腺炎患者, 搬动困难, 床旁CEUS既方便、及时, 而且对于疗效的评估、胰腺坏死程度的分级以及胰周血管有无受累、血管受累经治疗后有无改善等方面均有着非常重要的意义. 随着对AP脾血管并发症的认识加深和CEUS的逐步开展, CEUS必能够在该疾病的诊断及治疗方面发挥更大的作用.

■应用要点

通过脾脏的CEUS, 对于胰腺炎时的脾血管并发症的诊断准确性明显提高, 而且操作简便. 对于进行胰腺炎CEUS也是一项非常有益的补充, 能够给临床提供更多的诊断信息. 对于胰腺炎的诊治意义重大.

4 参考文献

1 王志辉, 邓又斌, 张青萍. 彩色多普勒血流成像对急性胰腺炎脾血管并发症的诊断价值. 华中医学杂志 2007; 31: 171-172

2 Balthazar EJ. Acute pancreatitis: assessment of severity with clinical and CT evaluation. *Radiology* 2002; 223: 603-613 [PMID: 12034923]

3 Working Party of the British Society of Gastroenterology; Association of Surgeons of Great Britain and Ireland; Pancreatic Society of Great Britain and Ireland; Association of Upper GI Surgeons of Great Britain and Ireland. UK guidelines for the management of acute pancreatitis. *Gut* 2005; 54 Suppl 3: iii1-iii9 [PMID: 15831893]

4 Fishman EK, Soyer P, Bliss DF, Bluemke DA, Devine N. Splenic involvement in pancreatitis: spectrum of CT findings. *AJR Am J Roentgenol* 1995;

■同行评价
本文设计合理、数据可信, 有一定临床指导意义.

164: 631-635 [PMID: 7863884]
5 钟跃, 罗燕, 卢强. 超声造影评价急性胰腺炎严重度的初步研究. 临床超声医学杂志 2012; 14: 589-592
6 Gandolfi L, Torresan F, Solmi L, Puccetti A. The role of ultrasound in biliary and pancreatic diseases. *Eur J Ultrasound* 2003; 16: 141-159 [PMID: 12573783 DOI: 10.1016/S0929-8266(02)00068-X]
7 Whitcomb DC. Clinical practice. Acute pancreatitis. *N Engl J Med* 2006; 354: 2142-2150 [PMID: 16707751]
8 Lu Q, Zhong Y, Wen XR, Huang ZW, Fan YT, Xia Q, Luo Y. Can contrast-enhanced ultrasound evaluate the severity of acute pancreatitis? *Dig Dis Sci* 2011; 56: 1578-1584 [PMID: 21113802]
9 Luo Y, Yuan CX, Peng YL, Wei PL, Zhang ZD, Jiang JM, Dai L, Hu YK. Can ultrasound predict the severity of acute pancreatitis early by observing acute fluid collection? *World J Gastroenterol* 2001; 7: 293-295 [PMID: 11819778]
10 Rickes S, Rauh P, Uhle C, Ensberg D, Mönkemüller K, Malfertheiner P. Contrast-enhanced sonography in pancreatic diseases. *Eur J Radiol* 2007; 64: 183-188 [PMID: 17869470]
11 Rickes S, Uhle C, Kahl S, Kolfenbach S, Monkemuller K, Effenberger O, Malfertheiner P. Echo enhanced ultrasound: a new valid initial imaging approach for severe acute pancreatitis. *Gut* 2006; 55: 74-78 [PMID: 16033880]
12 Ripollés T, Martínez MJ, López E, Castelló I, Delgado F. Contrast-enhanced ultrasound in the staging of acute pancreatitis. *Eur Radiol* 2010; 20: 2518-2523 [PMID: 20532782 DOI: 10.1007/s00330-010-1824-5]
13 李超伦, 王文平, 黄备建, 丁红, 何年安. 造影前后彩色多普勒超声诊断血管疾病的对照研究. 中国临床医学 2007; 14: 731-733
14 朱庆莉, 姜玉新, 蔡胜, 程铁花. 经周围静脉SonoVue超声造影诊断肾动脉狭窄价值的探讨. 中国医学影像技术 2004; 20: 56-58
15 李晓光, 张晓波, 石海峰, 潘杰, 周慷, 王志伟, 金征宇. 胰腺炎并发假性动脉瘤大出血的影像诊断及其经导管动脉栓塞治疗. 协和医学杂志 2010; 1: 77-81
16 陈惠莉, 杜联芳, 白敏, 顾继英, 周洋, 何颖倩. 超声造影应用于脾脏的初步探讨. 中国医学影像技术 2007; 23: 1355-1357

编辑 田滢 电编 闫晋利

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》外文字符标准

本刊讯 本刊论文出现的外文字符应注意大小写、正斜体与上下角标. 静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服*po*, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P^H, *H pylori*不能写成HP, T1/2不能写成tl/2或$T_{\frac{1}{2}}$, *V*max不能Vmax, μ不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种. 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H.pylori*), *Ilex pubescens* Hook, *et* Arn.*var.glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数*K*; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验和概率*P*, 相关系数*r*); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*)如*n*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), 例如*n*-butyl acetate(醋酸正丁酯), *N*-methylacetanilide(N-甲基乙酰苯胺), *o*-cresol(邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline(3-O-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine(右旋苯丙胺), *l*-dopa(左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸). 拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*; Ibid, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m*(质量), *V*(体积), *F*(力), *p*(压力), *W*(功), *v*(速度), *Q*(热量), *E*(电场强度), S(面积), *t*(时间), *z*(酶活性, kat), *t*(摄氏温度, ℃), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq), ρ(密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L), φ(体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径), T_{max}, C_{max}, *V*d, $T_{1/2}$ *Cl*等. 基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白.

世界华人消化杂志 2013年6月8日; 21(16): 1559-1562
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

急诊肠镜对结肠息肉电凝切除术后并发迟发性出血的诊疗价值

孙彩龙, 周兰芳, 金国文, 谢秀丽

孙彩龙, 周兰芳, 金国文, 谢秀丽, 浙江省杭州市萧山第三人民医院消化内科 浙江省杭州市 311251
孙彩龙, 副主任医师, 主要从事消化内科、消化内镜的临床研究.
作者贡献分布: 此课题由孙彩龙设计; 研究过程由孙彩龙、金国文及谢秀丽操作完成; 数据采集分析由孙彩龙、周兰芳及谢秀丽完成; 本论文撰写由孙彩龙完成.
通讯作者: 孙彩龙, 副主任医师, 311251, 浙江省杭州市萧山区临浦峙山北路, 浙江省杭州市萧山第三人民医院消化内科.
clsun2006@126.com
收稿日期: 2013-03-21 修回日期: 2013-04-17
接受日期: 2013-04-27 在线出版日期: 2013-06-08

Diagnostic and therapeutic value of emergency colonoscopy in delayed hemorrhage following colonic electrocoagulation resection of colorectal polyps

Cai-Long Sun, Lan-Fang Zhou, Guo-Wen Jin, Xiu-Li Xie

Cai-Long Sun, Lan-Fang Zhou, Guo-Wen Jin, Xiu-Li Xie, Department of Gastroenterology, Xiaoshan Third People's Hospital, Hangzhou 311251, Zhejiang Province, China
Correspondence to: Cai-Long Sun, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Xiaoshan Third People's Hospital, Zhishan North Road, Hangzhou 311251, Zhejiang Province, China. clsun2006@126.com
Received: 2013-03-21 Revised: 2013-04-17
Accepted: 2013-04-27 Published online: 2013-06-08

Abstract

AIM: To assess the value of emergency colonoscopy in the diagnosis and therapy of delayed hemorrhage following colonic electrocoagulation resection of colorectal polyps.

METHODS: Three of 972 patients who underwent colonic electrocoagulation resection for colorectal polyps developed delayed hemorrhage and underwent emergency colonoscopy.

RESULTS: Immediately after bleeding sites were identified by emergency endoscopy, colonoscopic electrocoagulation, injection therapy and titanium clip ligation treatment were given. Bleeding was stopped in all patients, and no complications developed.

CONCLUSION: Emergency colonoscopy is a safe, effective method for the diagnosis and treatment of delayed hemorrhage following high-frequency electrocoagulation resection of colorectal polyps.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Colonic polyps; High frequency electricity; Colonoscopy; Delayed hemorrhage

Sun CL, Zhou LF, Jin GW, Xie XL. Diagnostic and therapeutic value of emergency colonoscopy in delayed hemorrhage following colonic electrocoagulation resection of colorectal polyps. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(16): 1559-1562
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1559.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1559

摘要

目的: 探讨急诊肠镜在大肠息肉电凝切除术后迟发性出血诊治中的价值.

方法: 对972例大肠息肉经电凝切除术后发生肠道迟发性出血的3例患者急诊进行结肠镜检查和治疗.

结果: 急诊肠镜找到出血部位后立即分别进行结肠镜下电凝、注射治疗和钛夹结扎等处置, 全部病例出血停止, 内镜诊疗未发生任何并发症.

结论: 在大肠息肉高频电凝切除术后迟发性出血并发症中进行急诊肠镜检查和治疗是一种安全、有效的手段.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 结肠息肉; 高频电; 肠镜; 迟发性出血

核心提示: 本文通过对972例大肠息肉经电凝切除术后发生肠道迟发性出血的3例患者急诊进行结肠镜检查和治疗, 探讨了急诊肠镜在大肠息肉电凝切除术后迟发性出血诊治中的价值, 指出在大肠息

■背景资料
迟发性出血是在大肠息肉内镜下高频电凝切除术后并发症之一, 属医源性出血, 一般发生率较低, 一旦发生未及时处理严重者可致患者生命危险.

■同行评议者
阴赫宏, 研究员, 首都医科大学附属北京友谊医院感染与急救医学

■创新盘点
注重在大肠息肉高频电凝切除术前、中、后环节的防治, 一旦发生迟发性出血并发症应及时进行急诊肠镜检查并进行相应内镜下微创治疗.

肉高频电凝切除术后迟发性出血并发症中进行急诊肠镜检查和治疗是一种安全、有效的手段.

孙彩龙, 周兰芳, 金国文, 谢秀丽. 急诊肠镜对结肠息肉电凝切除术后并发迟发性出血的诊疗价值. 世界华人消化杂志 2013; 21(16): 1559-1562 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1559.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1559

0 引言

迟发性出血是在大肠息肉内镜下高频电凝切除术后所发并发症之一, 属医源性出血, 一般发生率较低, 临床报告一般为0.4%-2.0%[1,2], 一旦发生未及时处理严重者可致患者生命危险, 2001-10/2012-12我院消化内科肠镜下高频电凝切除结肠息肉972例共1547枚, 发生迟发出血3例, 其中术后48 h 1例, 术后第6天1例; 术后第7天1例, 分别在输液止血基础上予急诊肠镜下电凝切除、黏膜下注射、钛夹结扎治疗等控制, 效果满意, 现报告如下.

1 材料和方法

1.1 材料 2001-10/2012-12在我院消化内科门诊、住院患者中进行结肠镜下高频电凝切除结肠息肉972例共1547枚. 采用奥林巴斯CF-240型电子结肠镜、奥林巴斯PSD-20型高频电发生器、美国纬伦心电监护仪、德威APC9000型氩等离子电凝器、HX610-90钛夹、HX610-135钛夹、NM-1K注射针、1∶10000肾上腺素注射液、库克一次性电圈套器等.

1.2 方法

1.2.1 治疗方法: 急诊肠镜术前积极补液、止血治疗, 休克者输血、扩容、抗休克治疗, 找到出血灶后: 分别进行钛夹结扎、电凝切除、黏膜下注射、氩离子束烧灼等处理.

1.2.2 术后处理: 例3术后门诊输液, 嘱咐术后1 wk内流质、半流质饮食, 2 wk内避免剧烈活动, 其余2例均住院观察, 予输液止血抗炎治疗, 禁食24 h, 监测生命体征及血常规、大便潜血等, 3例均加服美沙拉嗪肠溶片0.8 g, tid.

2 结果

病例1: 女, 49岁, 因腹痛3 mo, 腹泻1 mo在本院门诊行结肠镜检查, 高频电凝圈套切除息肉6枚, 最大1.2 cm×1.5 cm, 术中无出血, 术后门诊静滴抗炎、止血2 d并在当地工厂上班, 术后第5天出现便血, 为鲜血, 共8次, 每次量约70-100 mL, 门诊予酚磺乙胺针0.75静滴、血凝酶针2 ku静推, 凝血酶冻干粉500 U化水100 mL分次口服, 症状未缓解, 继解暗红色血液带凝血块2次, 量约500 mL, 自觉头晕、乏力, 测Bp 88/62 mmHg, p95次/分, 积极予补液扩容、抗休克治疗, 500 mL清水清洁灌肠后急诊结肠镜检查, 见肠腔内大量血液潴留, 反复冲洗进镜见距肛70 cm一0.6 cm×0.8 cm溃疡, 附血痂, 边缘少量渗血; 距肛50 cm见一新鲜创面, 呈搏动性出血, 既往有糖尿病史10年, 高血压病史9年, 不规则服药至今, 内镜直视下距肛70 cm溃疡处置钛夹4枚结扎预防出血; 距肛50 cm搏动性出血处置钛夹5枚结扎止血, 术毕收入院治疗(图1, 2).

病例2: 女, 67岁, 因大便性状改变半年在本院肠镜下息肉切除术, 切除息肉4枚, 最大约1.8 cm×2.0 cm, 术中顺利无出血, 术后第6天排无痛鲜血便, 量约250 mL, 门诊予输液止血、抗炎治疗后急诊肠镜距肛70 cm见一创面, 残蒂较长、血液不断涌出, 既往高血压史18年, 间断服用替米沙坦、氨氯地平胶囊, 血压维持在145/90-165/100 mmHg, 内镜下再次电凝圈套切除, 血止(图3).

病例3: 男, 49岁, 主诉直肠癌术后1年, 肛门坠胀感2 mo, 肠镜见距肛7 cm一2.0 cm×3.0 cm不规则扁平状侧向发育型肿瘤, 予EPMR术, 术后2 d出现下腹隐痛伴便血, 量约150 mL, 予8 mg去甲肾上腺素+100 mL生理盐水保留灌肠2 h, 仍有便血, 急诊肠镜见创面边缘2处渗血, 分别予1∶10000肾上腺素注射液黏膜下注射、氩气烧灼, 术后8%孟氏液10 mL喷洒止血(图4).

3例术后均无活动性出血, 例1、例2分别住院7、5 d后治愈出院.

3 讨论

内镜下高频电凝切除术业已成为治疗大肠息肉的常规手段, 但其并发症不容忽视, 尤其迟发性出血, 虽发生率低但严重者可致命, 临床上对于发生于24 h以后的出血称为延迟出血, 文献报道多发生于术后24 h-1 wk, 常见是3-7 d, 部分可延长至以上[3-5], 2001-10/2012-12我院消化内科肠镜下高频电凝切除结肠息肉972例共1547枚, 发生迟发出血3例, 时间节点符合24 h-1 wk, 发生率0.31%, 低于有关临床报告的0.4%-2%, 分析可能与术前、术后积极采用预防出血措施有关[6-8].

迟发性出血一旦发生, 首先尽早做出判断: 首先判断是否术后所致出血, 可根据病史、症状体征及辅助检查, 排除肛门病变、上消化道及全身疾病如血液系统、感染性疾病等, 其次

■应用要点
对3例迟发性出血患者在积极充分补液、扩容、抗休克基础上, 不强求清洁肠道急诊行结肠镜检查, 找到出血病灶后选择性进行相应内镜治疗.

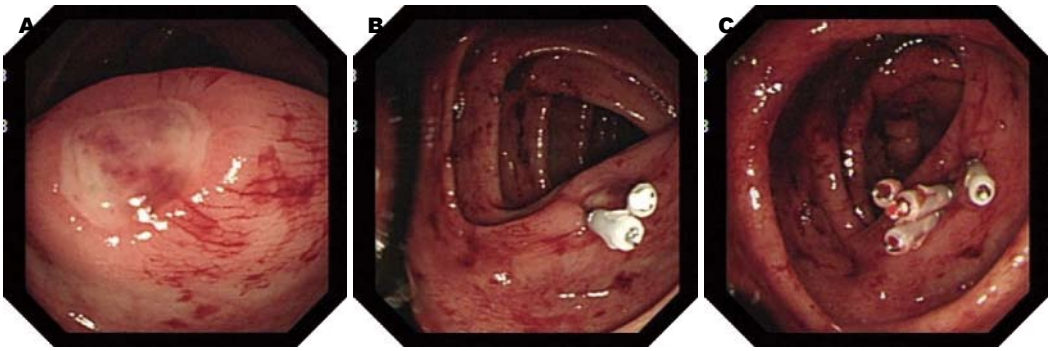


图 1 距肛70 cm. A: 创面边缘渗血; B, C: 钛夹结扎.

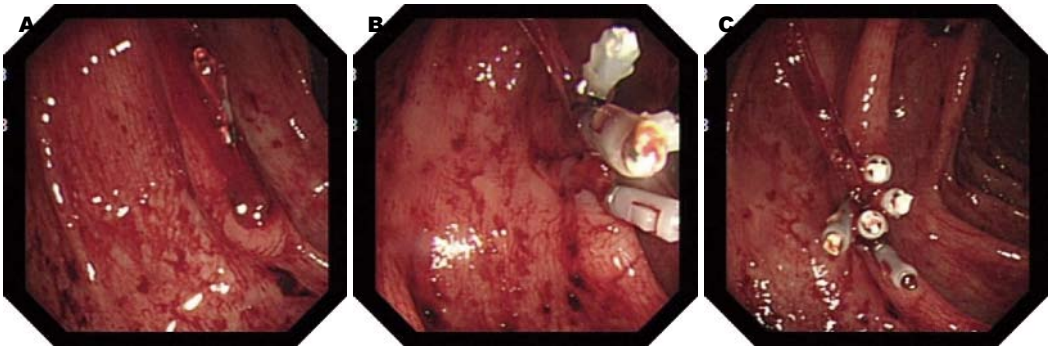


图 2 距肛50 cm. A: 搏动性出血; B, C: 钛夹结扎.

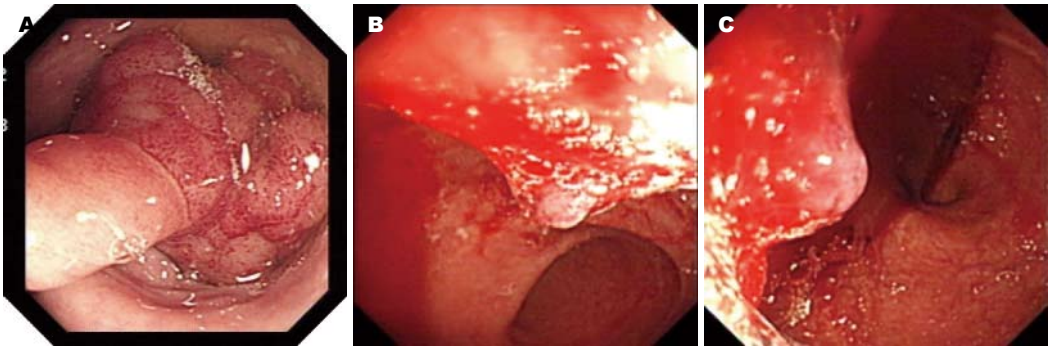


图 3 过长出血残蒂再次圈套切除. A: 长蒂息肉切除前; B, C: 残蒂过长并出血.

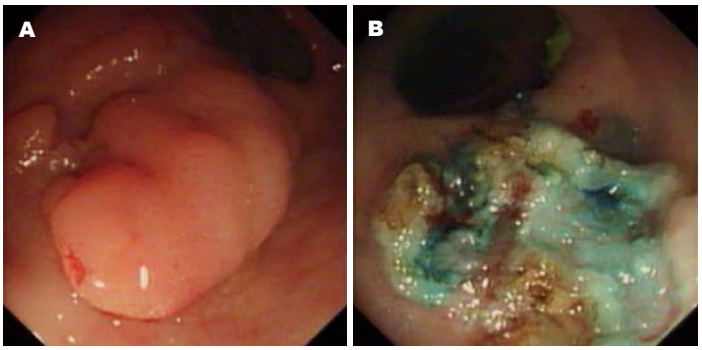


图 4 出血创面氩气烧灼. A: 侧向发育肿瘤术前; B: 术后出血氩气束凝固术后.

■名词解释

延迟出血: 系大肠息肉经肠镜下高频电凝圈套切除术后超过24 h发生的出血, 临床主要表现便血, 可伴有(或无)腹痛、腹胀、恶心、乏力、肛门下坠感等, 内镜下见残端活动出血, 严重者可出现休克甚至危及生命, 一般发生率较低, 大约0.4%-2.0%. 文献报道多发生于术后24 h-1 wk, 部分可延长至2 wk, 甚至更长.

判断出血的量, 鉴别是否休克早期或休克, 再次估计出血的部位、性质, 鲜血、果酱、暗红色便, 是否带黏液脓血、黑便, 有助于鉴别上消化道出血、炎症性肠病、血管性疾病(老年应警惕血管畸形、缺血性肠炎), 术前措施到位: 补液、止血, 必要时抗休克, 部位低可灌肠(8 mg去甲肾上腺素+100 mL生理盐水), 保守治疗失败急诊肠镜介入.

■同行评价
本文对972例大肠息肉经电凝切除术后发生肠道迟发性出血的3例患者进行结肠镜检查和治疗, 具有一定的实用价值.

普通肠镜检查均需口服全肠道灌洗择期进行[9], 但下消化道活动出血患者身体状况较差、病情急, 大剂量饮水难耐受, 且肠道准备时间较长, 不利于及时诊疗, 由于血液是天然的导泻剂, 一般大出血患者肠道内粪便剩余较少, 急诊肠镜比常规检查更容易看到新鲜出血灶, 有报导急诊肠镜发现出血部位阳性率高于择期2.6倍[10,11], 对于血液动力血学不稳定者, 在积极充分补液、扩容、抗休克基础上, 不强求清洁肠道急诊检查及早准确寻找出血病灶、有效内镜治疗; 对于血流动力学稳定的急性出血患者, 出血量不大或出血暂时停止者允许清水灌肠, 500-800 mL, 1-2次, 术前须查阅前次肠镜手术报告中标记的部位, 在急诊重复肠镜时重点关注, 据循腔进镜原则, 自下而上排除肛门病变、缓慢进镜, 动作要轻柔, 观察要仔细, 避免冲气过度, 加重出血、甚至穿孔, 粪便多时可用50 mL针筒经活检钳道冰生理盐水反复冲洗、吸引; 肠腔内见柏油样大便, 系陈旧性出血, 还不到出血部位, 继续进镜寻找; 见暗红色便, 示快到出血部位; 见鲜红色便, 示附近活动出血, 沿血迹线索进镜至肠腔清洁处, 表面已越过出血部位撤镜, 仔细查找出血病灶, 若到回盲部仍有暗红色大便, 逆行进入末端回肠仍有暗红色血液流出, 示病变在小肠甚至在上消化道, 相反整个结肠无活动出血, 应考虑病变在小肠并排除肛门病变, 找到病灶后根据实际分别予1∶10000肾上腺素针黏膜下注射、氩气刀烧灼、残余长蒂电凝切除、创口血管搏动处钛夹结扎止血等处理.

迟发性出血原因不外乎医、患两方因素及术前、中、后环节, 术前应常规进行血常规、凝血酶谱检查排除出血性疾病; 高血压、糖尿病是迟发性出血的危险因素[12,13], 高血压患者血液流变率不稳定, 易出血; 糖尿病患者结肠黏膜血管较脆、术后愈合差, 对高危患者减少其危险因子, 密切观察以及及早对症处理、预防出血是必要的[14], 因此术前均须正规服药力求控制在合理水平, 本组资料显示1例患者高血压未控制导致出血. 1例高血压合并糖尿病患者创面影响愈合, 术中操作者经验不足、医护配合不默契、电凝不充分等均是导致迟发性出血的重要原因[15], 术后环节也应重视, 不宜过早剧烈活动, 本组资料一例患者术后第2天下地干重活, 导致术后大出血, 分析此期创面焦痂脱落, 新生肉芽组织未完全生长导致出血. 为预防术后出血我们体会术后常规适量使用止血药、抗生素; 术后短期应用美沙拉嗪肠溶片口服利于创面修复; 嘱咐患者术后1 wk内流质、半流质饮食, 2 wk内避免活动, 均收到较好效果.

总之, 在大肠息肉高频电凝切除术后迟发性出血并发症中进行急诊肠镜检查和治疗是一种安全、有效的手段.

4 参考文献

1 谭诗云, 沈磊, 罗和生, 沈志祥, 于皆平. 大肠息肉及息肉样病变高频电凝切除术后延迟出血的原因及处理. 武汉大学学报(医学版) 2002; 23: 352-353
2 Mergener K, Baillie J. Complications of endoscopy. *Endoscopy* 1998; 30: 230-243 [PMID: 9592664 DOI: 10.1055/s-2007-1001249]
3 吴学琴, 孙宏利, 丁小兰. 下消化道急性大出血急诊肠镜检查22例分析. 河北医药 2008; 30: 1027
4 张文俊, 江学良, 李兆申. 结肠镜诊疗的并发症. 世界华人消化杂志 2004; 12: 2727-2730
5 李益农, 陆星华主编. 消化内镜学. 第2版. 北京: 科学出版社, 676-693
6 Shioji K, Suzuki Y, Kobayashi M, Nakamura A, Azumaya M, Takeuchi M, Baba Y, Honma T, Narisawa R. Prophylactic clip application does not decrease delayed bleeding after colonoscopic polypectomy. *Gastrointest Endosc* 2003; 57: 691-694 [PMID: 12709699 DOI: 10.1067/mge.2003.193]
7 Watabe H, Yamaji Y, Okamoto M, Kondo S, Ohta M, Ikenoue T, Kato J, Togo G, Matsumura M, Yoshida H, Kawabe T, Omata M. Risk assessment for delayed hemorrhagic complication of colonic polypectomy: polyp-related factors and patient-related factors. *Gastrointest Endosc* 2006; 64: 73-78 [PMID: 16813806 DOI: 10.1016/j.gie.2006.02.054]
8 赵保民, 赵曙光, 刘震雄, 王旭霞, 杨琦, 赵玉玲, 周惠萍, 姜慧玲, 闻勤生. 内镜治疗并发胃肠道出血的预防与处理. 世界华人消化杂志 2011; 19: 289-294
9 蔡文智, 智发朝, 李凤玲, 陈秀云, 姜泊. 肠镜检查肠道准备无效率的影响因子. 世界华人消化杂志 2005; 13: 1785-1787
10 童仕伦, 吴红学. 下消化道出血的诊断及处理策略. 腹部外科 2010; 23: 134-135
11 吴江, 罗庆元, 丁永平, 朱丽蓉. 结肠息肉摘除术后延迟出血的结肠镜检查和结肠镜治疗. 新疆医科大学学报 2004; 27: 504-505
12 孙斌, 许建明, 谢惠君. 金属钛夹减少结肠息肉切除术后迟发出血的临床观察. 临床荟萃 2006; 21: 868-869
13 江应平, 何正在, 郭良忠. 大肠息肉高频电切除术后迟发性出血四例报告. 中华消化内镜杂志 2002; 19: 60
14 黄丽韫, 毛华, 金少琴, 余建林. 大肠息肉切除术后迟发性出血的危险因素分析. 中国内镜杂志 2012; 18: 809-812
15 荆巧玲, 周力, 朱素华. 大肠息肉高频切除术后迟发性出血5例. 中国肛肠病杂志 2004; 6: 43

编辑 田滢 电编 闫晋利

世界华人消化杂志 2013年6月8日; 21(16): 1563-1567
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

熊去氧胆酸预防溃疡性结肠炎癌变的Meta分析

崔德军, 黄 博, 朱 敏, 任 映

崔德军, 黄博, 朱敏, 贵州省人民医院消化内科 贵州省贵阳市 550002
任映, 贵州省交通医院内科 贵州省贵阳市 550002
崔德军, 副主任医师, 主要从事消化系疾病的基础与临床研究.
贵阳市社会发展与民生科技计划基金资助项目, No. 筑科合同[2012103]50号
作者贡献分布: 此课题由崔德军设计; 研究过程由崔德军、黄博及朱敏完成; 文献筛选与质量评价由崔德军、黄博及任映完成; 数据的提取和统计分析由崔德军与黄博完成; 本论文写作由崔德军完成.
通讯作者: 崔德军, 副主任医师, 550002, 贵州省贵阳市南明区中山东路83号, 贵州省人民医院消化内科. hxcuidj@163.com
收稿日期: 2013-01-28 修回日期: 2013-04-17
接受日期: 2013-05-12 在线出版日期: 2013-06-08

Ursodeoxycholic acid for preventing colorectal cancer in patients with ulcerative colitis: A meta-analysis

De-Jun Cui, Bo Huang, Min Zhu, Ying Ren

De-Jun Cui, Bo Huang, Min Zhu, Department of Gastroenterology, Guizhou Provincial People's Hospital, Guiyang 550002, Guizhou Province, China
Ying Ren, Department of Internal Medicine, Guizhou Provincial Traffic Hospital, Guiyang 550002, Guizhou Province, China
Supported by: the Social Development and People Livelihood Science and Technology Program of Guiyang, No. [2012103]50
Correspondence to: De-Jun Cui, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Guizhou Provincial People's Hospital, 83 Zhongshan East Road, Nanming District, Guiyang 550002, Guizhou Province, China. hxcuidj@163.com
Received: 2013-01-28 Revised: 2013-04-17
Accepted: 2013-05-12 Published online: 2013-06-08

Abstract

AIM: To evaluate the efficacy of ursodeoxycholic acid (UDCA) in preventing colorectal cancer in patients with ulcerative colitis (UC).

METHODS: Keyword and MeSH searches of the Cochrane Database, Pubmed, Embase, Science Citation Index, Full-text Database of Chinese Journals, the Database of Chinese Science Journals and Wanfang Database from the inception of each database to December 2012 were performed to identify all available randomized controlled trials. Two independent reviewers assessed studies for inclusion and exclusion based on methodological quality criteria. Summary estimates of preventive effects were produced with Review Manager 5.2, using odds ratio (OR).

RESULTS: Three randomized controlled trials comparing UDCA with placebo were qualified for the meta-analysis according to inclusion criteria. Patients who received UDCA had a similar risk of developing colorectal dysplasia or cancer compared with those who received placebo (dysplasia: OR = 1.11, 95%CI: 0.22-5.73, P = 0.90; cancer: OR = 0.54, 95%CI: 0.12-2.54, P = 0.44). UDCA-treated patients had lower progression scores of dysplasia than those treated with placebo.

CONCLUSION: UDCA may prevent further progression of low-grade colorectal dysplasia but does not decrease incidence of colorectal dysplasia or cancer in patients with UC.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Ursodeoxycholic acid; Ulcerative colitis; Meta-analysis; Systematic review

Cui DJ, Huang B, Zhu M, Ren Y. Ursodeoxycholic acid for preventing colorectal cancer in patients with ulcerative colitis: A meta-analysis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(16): 1563-1567 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1563.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1563

摘要

目的: 评价熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid, UDCA)预防溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)癌变的有效性.

方法: 用关键词或主题词检索Cochrane图书馆、Pubmed、Embase、ISI数据库、中国期刊全文数据库、中文科技期刊数据库和万方数据库以获得相关随机对照试验, 检索时间从建库至2012-12. 根据纳入和排除标准由2名研究者独立进行文献质量评价, 应用Review Manager 5.2统计软件分析UDCA预防UC癌变的有效性, 效应量为比值比(odds ratio, OR).

■背景资料
溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是慢性非特异性炎症性疾病, 病程越长、病变范围越大, 患结直肠癌的风险越高, UC合并原发性硬化性胆管炎时癌变风险更高. 熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid, UDCA)常用于治疗合并原发性硬化性胆管炎的UC患者. 目前UDCA预防UC癌变的作用存在争议.

■同行评议者
杜奕奇, 副教授, 中国人民解放军第二军医大学长海医院; 刘杰民, 副主任医师, 贵州省人民医院消化内镜科

■研发前沿
UDCA预防UC癌变的作用存在量效关系，甚至长期大剂量使用UDCA可增加UC癌变风险可能. 亟待开展不同剂量UDCA与UC癌变关系的基础和临床研究.

结果: 根据纳入标准纳入3个比较UDCA与安慰剂的随机对照试验. UDCA组结直肠非典型性增生或癌的发病率与安慰剂组无统计学差异(非典型性增生: OR = 1.11, 95%CI: 0.22-5.73, *P* = 0.90; 癌: OR = 0.54, 95%CI: 0.12-2.54, *P* = 0.44). 与安慰剂比较, UDCA可减少非典型性增生积分.

结论: UDCA可阻止UC结直肠低度非典型性增生的进展, 但不能降低UC相关性非典型性增生和结直肠癌的发病率.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 熊去氧胆酸; 溃疡性结肠炎; Meta分析; 系统评价

核心提示: 熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid)有阻止溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)结直肠低度非典型性增生的进展可能, 但不能降低UC相关性非典型性增生和结直肠癌的发病率.

崔德军, 黄博, 朱敏, 任映. 熊去氧胆酸预防溃疡性结肠炎癌变的Meta分析. 世界华人消化杂志 2013; 21(16): 1563-1567
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1563.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1563

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一类病因不很清楚的肠道非特异性炎症性疾病. UC病程常呈慢性迁延过程, 有癌变倾向. UC相关性结直肠癌发病风险随病程逐年增加[1]. 目前采用内镜监测UC癌变[2], 但未见内镜监测可延长UC生存期的确切证据[3]. 因而探索药物预防UC癌变显得很重要. 熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid, UDCA)可用于UC合并原发性硬化性胆管炎的治疗. 目前UDCA预防UC癌变的作用存在争议. 因而, 本研究就UDCA预防UC癌变作一Meta分析, 以期为药物预防UC癌变提供循证医学证据.

1 材料和方法

1.1 材料 检索Cochrane Library、PubMed、Embase、ISI数据库、中国期刊全文数据库、中文科技期刊数据库和万方数据库, 检索时限为从建库至2012-12. 在临床试验注册中心查询正在研究的临床试验. 英文检索词: ulcerative colitis, inflammatory bowel disease, ursodeoxycholic acid; 中文检索词: 溃疡性结肠炎, 炎症性肠病, 熊去氧胆酸. 手工检索相关文献的参考文献和国内外重要胃肠病会议的摘要, 如美国消化疾病周、亚太消化疾病周等. 联系有关医药公司获取熊去氧胆酸相关信息.

1.2 方法

1.2.1 纳入与排除标准: 纳入标准: 纳入已发表及未发表的随机对照试验(randomised controlled trials, RCTs), 语言不限. 研究对象为确诊UC的患者, 性别、年龄、人种和国籍等不限. 干预措施为试验组使用熊去氧胆酸治疗, 治疗剂量、疗程、给药途径不限. 对照组采用安慰剂或空白对照. 主要测量指标为癌变发生率、非典型性增生发生率, 具体标准由相应的纳入研究定义. 次要测量指标为不良反应发生率. 排除标准: 排除数据资料不全或未表明终点结局而无法纳入利用的资料. 排除重复的报道.

1.2.2 质量评价: 根据纳入与排除标准由两位研究者独立进行文献质量评价, 有分歧时由第3位研究者参与讨论并最终决定是否纳入文献. 按照Cochrane系统评价员手册(5.0版)[4]对纳入的研究进行文献质量评价. 评价内容为: 随机方法、分配隐藏、盲法、退出与失访、选择性报告和其他偏倚来源. 文献质量分A、B、C 3个等级. 文献质量A级为所有质量评价标准均完全满足, 偏倚可能性最小; B级为任何一条或多条质量评价标准部分满足, 偏倚可能性为中度; C级为任何一条或多条质量评价标准完全不满足, 偏倚可能性为高度.

1.2.3 资料提取: 由两位研究者独立进行资料提取, 交叉核查, 有分歧时征求第3位研究者意见. 资料提取表内容包括: 基本情况、试验对象特征、干预措施、研究特征、研究结果. 对纳入的每一个RCT分别提取数据. 对失访和退出情况, 尽量获得意向性分析(intention-to-treat analysis, ITT)数据. 通过邮件与作者联系以索取缺乏的数据. 涉及多组研究的RCT时, 提取与本研究相关的数据.

统计学处理 采用Cochrane协作网提供的RevMan 5.2软件进行统计分析. 效应量为比值比(odds ratio, OR), 并计算其95%置信区间(confidence interval, CI). 统计学异质性采用卡方检验(chi-square test, χ^2), 若$P>0.1$, $I^2\leq 50\%$时异质性不明显, 采用固定效应模型估计合并效应量; 若$P\leq 0.10$, $I^2>50\%$)时异质性明显, 选用随机效应模型. 异质性过大时($I^2>75\%$)需要分析异质性原因和来源, 必要时进行亚组分析、敏感性分析, 甚至放弃Meta分析. 合并效应量的检验采用Z检验, $P\leq 0.05$有统计学意义. 纳入研究在9篇以上

■相关报道
Ashraf等采用Meta分析方法发现UDCA不能降低UC合并原发性硬化性胆管炎患者的腺瘤变或癌变风险.

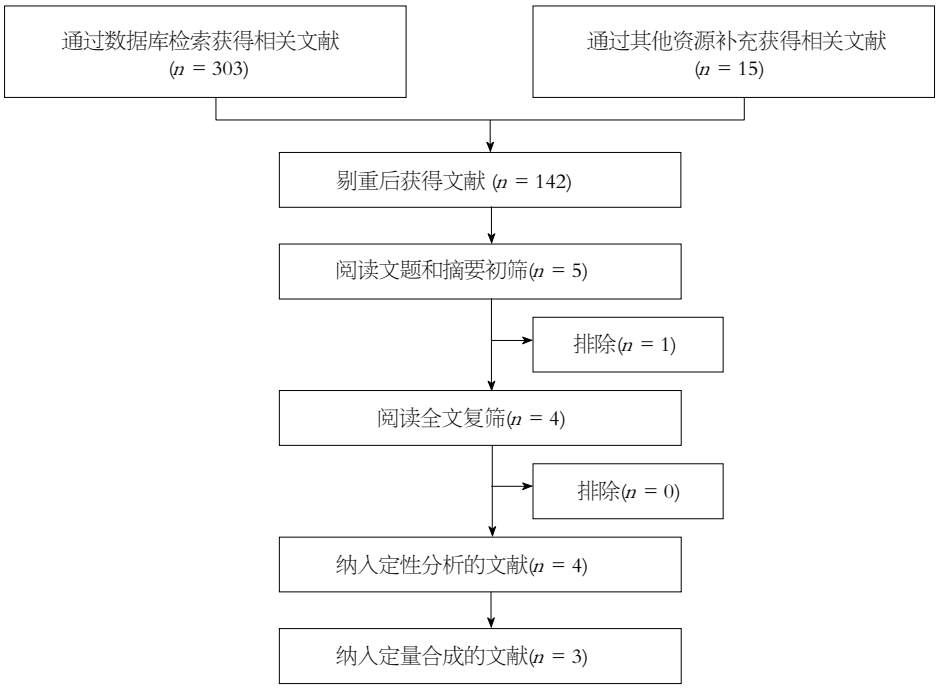


图 1 文献筛选流程与结果.

■创新盘点

本文严格评价UDCA预防UC癌变的有效性. 纳入研究证据强度大, 结果的真实性和可靠性好. 本研究为UC临床合理用药提供一定证据, 具有一定创新性.

表 1 纳入研究特征与质量评价

纳入研究	样本量	试验组	对照组	基线情况	随机方法	隐蔽分组	盲法	失访/退出	选择性报告	其他偏倚来源	质量等级
Pardi等[5]2003	52	UDCA(13–15 mg/kg·d)	安慰剂	可比	计算机随机	unclear	双盲	有描述	unclear	unclear	B
Sjöqvist等[6]2004	19	UDCA(500 mg bid)	安慰剂	可比	提及	unclear	双盲	有描述	unclear	unclear	B
Eaton等[7]2011	56	UDCA(28–30 mg/kg·d)	安慰剂	可比	计算机随机	unclear	双盲	有描述	unclear	unclear	B
Lindström等[8]2012	98	UDCA(17–23 mg/kg·d)	安慰剂	基本可比	提及	unclear	双盲	有描述	unclear	unclear	B

UDCA: 熊去氧胆酸.

时采用倒漏斗图检验发表偏倚.

2 结果

2.1 文献检索结果 文献筛选流程和结果见图1. 最终纳入4个RCTs[5-8]进行评价, 其中3个RCTs进行定量合成(Meta分析).

2.2 纳入研究的基本特征与质量评价 纳入研究的RCTs皆为国外文献, 均为随机、双盲、安慰剂对照试验. 纳入的4个RCTs对隐蔽分组、失访与退出、选择性报告、其他偏倚来源的描述不很清楚, 质量等级皆为B级. 各纳入研究的基本特征与质量评价详见表1.

2.3 Meta分析结果

2.3.1 UC非典型性增生发生率: 纳入4个RCTs[5-8], 其中1个RCT[6]研究UDCA对已发生非典型性增生或DNA异倍体的炎症性肠病患者的治疗作用, 采用UDCA与安慰剂对照的随机双盲试验. 结果发现UDCA组与安慰剂组无显著差异, 但安慰剂组非典型性增生有加重或转化为异型增生有关的病变或肿块情况, 而UDCA组病灶无加重情况. 该RCT认为UDCA可能会阻止炎症性肠病结直肠低度非典型性增生的发展. 但该RCT与本研究拟探讨的UDCA预防UC癌变作用的目的不一致, 因而未纳入Meta分析.

纳入定量分析的3个研究[5,7,8]皆监测了UDCA组与安慰剂组的非典型性增生发生率. 其中试验组102例, 对照组104例. Meta分析结果显示各组间异质性差异有统计学意义(P<0.10, I^2 =

■应用要点

本研究表明UDCA可阻止UC结直肠低度非典型性增生的发展, 但不能降低UC相关性结直肠癌和非典型性增生的发病率. 本文为UC并发原发性硬化性胆管炎的合理治疗提供参考.

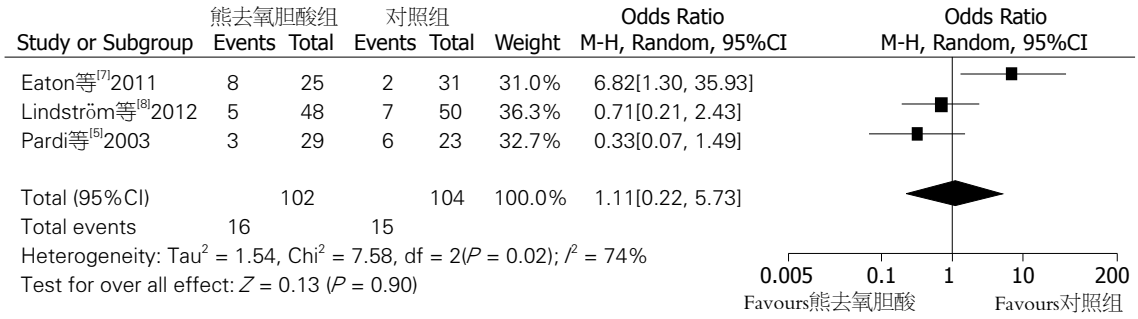


图 2 两组非典型性增生发生率比较的Meta分析.

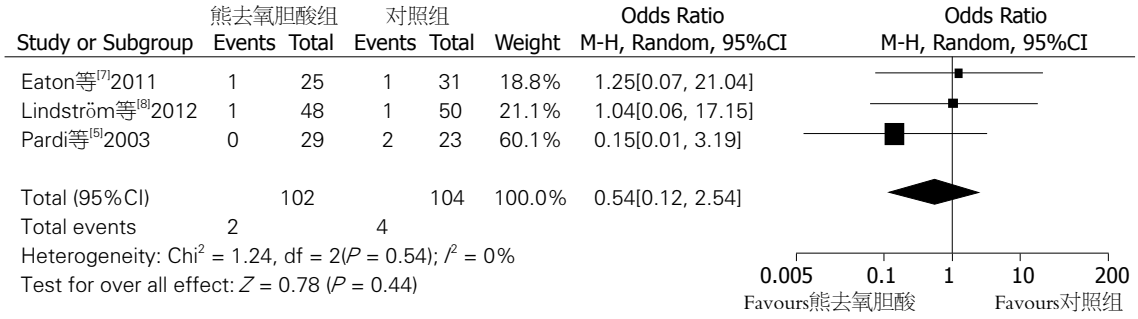


图 3 两组癌变发生率比较的Meta分析.

74%), 采用随机效应模型分析. UDCA组与安慰剂组的非典型性增生发生率差异无统计学意义(OR = 1.11, 95%CI: 0.22-5.73, P = 0.90)(图2). 排除含常规剂量UDCA的试验后重新进行Meta分析, 结果稳定性好.

2.3.2 UC癌变发生率: 纳入分析的3个研究[5,7,8]比较了UDCA组与安慰剂组的癌变发生率. Meta分析结果显示各组间异质性差异没有统计学意义(P>0.10, I^2 = 0%), 采用固定效应模型分析. UDCA组与安慰剂组的癌变发生率差异没有统计学意义(OR = 0.54, 95%CI: 0.12-2.54, P = 0.44)(图3). 敏感性分析显示结果稳定性好.

2.3.3 UC发表偏倚: 因纳入的RCTs<9个, 未绘制倒漏斗图分析发表偏倚.

3 讨论

UC是一种慢性非特异性结直肠炎, 病程越长、病变范围越大, 患结直肠癌的风险越高. UC并发原发性硬化性胆管炎时癌变风险更高[9,10]. 因而如何预防UC癌变是临床医生亟待解决的难题. UDCA是最早从北极熊胆汁中分离得到的一种亲水二羟胆盐, 有增加胆汁酸的分泌, 抑制肝脏胆固醇的合成等作用. 临床上主要用于原发性胆汁性肝硬化、胆固醇型胆结石、原发性硬化性胆管炎等肝胆系统疾病的治疗. 近来有研究表明, UDCA对结直肠肿瘤、异型增生有化学预防作用[11,12], 欧洲克罗恩病与结肠炎组织和美国胃肠病学会皆推荐UDCA治疗并发原发性硬化性胆管炎的UC患者[13,14]. 近来UDCA预防UC癌变的临床研究结论不完全一致, 甚至有研究发现长期大剂量使用UDCA可增加并发原发性硬化性胆管炎的UC患者的癌变风险[7]. 因而有必要对UDCA预防溃疡性结肠炎癌变的作用作一系统评价, 为UC临床合理用药提供证据.

本研究较全面地检索全世界范围内UDCA预防UC癌变的RCTs. 纳入分析的RCTs都为随机、安慰剂对照试验, 质量等级高. 纳入分析的RCTs皆使用双盲法, 可避免测量性偏倚, 但部分RCTs[6,8]仅提及随机, 未具体描述随机方法, 可能存在选择性偏倚. 隐蔽分组不清楚, 也可导致选择性偏倚. 隐蔽分组不清楚的临床试验的比值比可达30%的偏倚, 隐蔽分组不充分的临床试验中可有41%的偏倚[15]. 纳入Meta分析的RCTs的试验组UDCA用药剂量、时间不一致, 存在一定异质性. 纳入的文献皆为国外文献, 在国外开展的研究. 评价结果是否适用于我国患者, 是否可推广应用, 需要慎重对待.

Meta分析结果表明UDCA组与安慰剂组的非典型性增生发生率差异无统计学意义, 但存在异质性. 考虑异质性与用药剂量、时间、随访时间、内镜监测等有关. 由于I^2<75%, 未进一步作敏感性分析和亚组分析. UDCA组与安慰剂

组的癌变发生率差异也无统计学意义. 本研究与Ashraf等[16]的研究结果相似. 但本研究纳入的RCTs证据强度较高, 敏感性分析提示稳定性较好, 结果的真实性和可靠性更好. 另外, 本研究定性分析还发现UDCA可能会阻止UC结直肠低度非典型性增生的发展.

本研究就UDCA预防UC癌变作一Meta分析, 前瞻性的UDCA治疗UC非典型性增生或DNA异倍体的RCT少. 纳入的RCTs样本量有限, 且Meta分析为2次研究, 结果证据强度依赖于纳入RCTs的质量, Meta分析在设计、资料收集、质量评价、统计分析可存在偏倚, 因而在评价UDCA预防UC癌变效果时可能存在一定局限性.

总之, UDCA可阻止UC结直肠低度非典型性增生的发展, 但不能降低UC相关性结直肠癌和非典型性增生的发病率. 由于纳入RCTs少, 存在一些方法学上的局限性, 应慎重对待本评价结论. 今后有必要严格按照CONSORT标准[17]开展大样本、多中心、高质量的临床随机对照试验, 并长期随访, 以进一步验证上述结论.

4 参考文献

1 Herszenyi L, Miheller P, Tulassay Z. Carcinogenesis in inflammatory bowel disease. *Dig Dis* 2007; 25: 267-269 [PMID: 17827953]
2 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2012•广州). 中华内科杂志 2012; 51: 818-831
3 Danese S, Fiocchi C. Ulcerative colitis. *N Engl J Med* 2011; 365: 1713-1725 [PMID: 22047562 DOI: 10.1056/NEJMra1102942]
4 Higgins JPT, Green S (editors). Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions Version 5.0.0 [updated February 2008]. The Cochrane Collaboration, 2008
5 Pardi DS, Loftus EV, Kremers WK, Keach J, Lindor KD. Ursodeoxycholic acid as a chemopreventive agent in patients with ulcerative colitis and primary sclerosing cholangitis. *Gastroenterology* 2003; 124: 889-893 [PMID: 12671884]
6 Sjöqvist U, Tribukait B, Ost A, Einarsson C, Oxelmark L, Löfberg R. Ursodeoxycholic acid treatment in IBD-patients with colorectal dysplasia and/or DNA-aneuploidy: a prospective, double-blind, randomized controlled pilot study. *Anticancer Res* 2004; 24: 3121-3127 [PMID: 15510599]
7 Eaton JE, Silveira MG, Pardi DS, Sinakos E, Kowdley KV, Luketic VA, Harrison ME, McCashland T, Befeler AS, Harnois D, Jorgensen R, Petz J, Lindor KD. High-dose ursodeoxycholic acid is associated with the development of colorectal neoplasia in patients with ulcerative colitis and primary sclerosing cholangitis. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 1638-1645 [PMID: 21556038 DOI: 10.1038/ajg.2011.156]
8 Lindström L, Boberg KM, Wikman O, Friis-Liby I, Hultcrantz R, Prytz H, Sandberg-Gertzén H, Sangfelt P, Rydning A, Folvik G, Gangsøy-Kristiansen M, Danielsson A, Bergquist A. High dose ursodeoxycholic acid in primary sclerosing cholangitis does not prevent colorectal neoplasia. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 35: 451-457 [PMID: 22221173 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04966.x]
9 Soetikno RM, Lin OS, Heidenreich PA, Young HS, Blackstone MO. Increased risk of colorectal neoplasia in patients with primary sclerosing cholangitis and ulcerative colitis: a meta-analysis. *Gastrointest Endosc* 2002; 56: 48-54 [PMID: 12085034]
10 Silveira MG, Lindor KD. Primary sclerosing cholangitis. *Can J Gastroenterol* 2008; 22: 689-698 [PMID: 18701947]
11 Khare S, Mustafi R, Cerda S, Yuan W, Jagadeeswaran S, Dougherty U, Tretiakova M, Samarel A, Cohen G, Wang J, Moore C, Wali R, Holgren C, Joseph L, Fichera A, Li YC, Bissonnette M. Ursodeoxycholic acid suppresses Cox-2 expression in colon cancer: roles of Ras, p38, and CCAAT/enhancer-binding protein. *Nutr Cancer* 2008; 60: 389-400 [PMID: 18444174 DOI: 10.1080/01635580701883003]
12 Tung BY, Emond MJ, Haggitt RC, Bronner MP, Kimmey MB, Kowdley KV, Brentnall TA. Ursodiol use is associated with lower prevalence of colonic neoplasia in patients with ulcerative colitis and primary sclerosing cholangitis. *Ann Intern Med* 2001; 134: 89-95 [PMID: 11177311]
13 Biancone L, Michetti P, Travis S, Escher JC, Moser G, Forbes A, Hoffmann JC, Dignass A, Gionchetti P, Jantschek G, Kiesslich R, Kolacek S, Mitchell R, Panes J, Soderholm J, Vucelic B, Stange E. European evidence-based Consensus on the management of ulcerative colitis: Special situations. *J Crohns Colitis* 2008; 2: 63-92 [PMID: 21172196 DOI: 10.1016/j.crohns.2007.12.001]
14 Farraye FA, Odze RD, Eaden J, Itzkowitz SH, McCabe RP, Dassopoulos T, Lewis JD, Ullman TA, James T, McLeod R, Burgart LJ, Allen J, Brill JV. AGA medical position statement on the diagnosis and management of colorectal neoplasia in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2010; 138: 738-745 [PMID: 20141808 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.12.037]
15 Schulz KF, Chalmers I, Hayes RJ, Altman DG. Empirical evidence of bias. Dimensions of methodological quality associated with estimates of treatment effects in controlled trials. *JAMA* 1995; 273: 408-412 [PMID: 7823387 DOI: 10.1001/jama.273.5.408]
16 Ashraf I, Choudhary A, Arif M, Matteson ML, Hammad HT, Puli SR, Bechtold ML. Ursodeoxycholic acid in patients with ulcerative colitis and primary sclerosing cholangitis for prevention of colon cancer: a meta-analysis. *Indian J Gastroenterol* 2012; 31: 69-74 [PMID: 22528343 DOI: 10.1007/s12664-012-0175-3]
17 Schulz KF, Moher D, Altman DG. CONSORT 2010 comments. *Lancet* 2010; 376: 1222-1223 [PMID: 20934594 DOI: 10.1016/S0140-6736(10)61879-X]

■同行评价
本文就UDCA预防UC癌变作一Meta分析, 研究结论为指导临床用药提供了重要依据.

编辑 田滢 电编 闫晋利

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2013年6月8日; 21(16): 1568-1572
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

新疆伊犁地区上消化道疾病患者幽门螺杆菌感染率的相关因素

霍晓灵, 秦 健, 张 炜, 张文珍, 朱雪莲, 窦玉勤, 叶妮娜

■背景资料
幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是慢性胃炎、消化性溃疡的重要致病因子,且与胃癌的发生密切相关. 对新疆伊犁地区上消化道疾病患者*H. pylori*感染率相关因素进行分析, 为临床有效的*H. pylori*防治措施提供科学依据.

霍晓灵, 秦健, 张文珍, 朱雪莲, 窦玉勤, 叶妮娜, 新疆生产建设兵团四师医院 新疆维吾尔自治区伊宁市 835000
张炜, 江苏大学附属医院消化科 江苏省镇江市 212001
霍晓灵, 教授, 主任医师, 主要从事幽门螺杆菌的治疗、消化系早癌、胰腺疾病诊治的研究.
作者贡献分布: 此课题由霍晓灵设计, 并且提供资金; 由霍晓灵、张炜、秦健、叶妮娜及朱雪莲提供临床病例; 张文珍完成^{14}C尿素呼气试验检查并收集记录临床资料; 秦健、叶妮娜、窦玉勤及张炜完成胃镜检查; 数据分析由霍晓灵、张炜及秦健完成; 本论文写作由霍晓灵、张炜及秦健完成; 霍晓灵与张炜负责组织协调.
通讯作者: 霍晓灵, 教授, 主任医师, 835000, 新疆维吾尔自治区伊宁市新华西路56号, 新疆生产建设兵团四师医院消化内科.
huoxl963@126.com
电话: 0999-8039027
收稿日期: 2013-01-31 修回日期: 2013-03-25
接受日期: 2013-05-08 在线出版日期: 2013-06-08

Factors related to rate of *Helicobacter pylori* infection in patients with upper gastrointestinal tract diseases in Yili

Xiao-Ling Huo, Jian Qin, Wei Zhang, Wen-Zhen Zhang, Xue-Lian Zhu, Yu-Qin Dou, Ni-Na Ye

Xiao-Ling Huo, Jian Qin, Wen-Zhen Zhang, Xue-Lian Zhu, Qin-Yu Dou, Ni-Na Ye, Xinjiang Production and Construction Corps-Four Division Hospital, Yining 835000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Wei Zhang, Department of Gastroenterology, Jiangsu University Affiliated Hospital, Zhenjiang 212001, Jiangsu Province, China
Correspondence to: Xiao-Ling Huo, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Xinjiang Production and Construction Corps-Four Division Hospital, 56 Xinhua West Road, Yining 835000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. huoxl963@126.com
Received: 2013-01-31 Revised: 2013-03-25
Accepted: 2013-05-08 Published online: 2013-06-08

Abstract

AIM: To investigate the status of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection in patients with upper gastrointestinal tract diseases in Yili, Xinjiang.

METHODS: A total of 3925 patients with upper gastrointestinal symptoms, including 2183 males and 1742 females, were included in the study. All patients received gastroscopy and ^{14}C-UBT. The rate of *H. pylori* infection was calculated. The effect of disease type, gender, age, ethnicity, occupation and living region on the rate of *H. pylori* infection was analyzed.

RESULTS: The overall rate of *H. pylori* infection was 50.57%, obviously lower than that ten years ago. The rate of *H. pylori* infection was different among each age group. Han nationality patients had a lower rate of *H. pylori* infection than minority patients. Rural residents had a higher rate of *H. pylori* infection than urban and suburban residents.

CONCLUSION: *H. pylori* infection is closely related to ethnicity, living area, age, economic level, and environment in patients with upper gastrointestinal tract diseases in Yili.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Infection rate; Upper gastrointestinal diseases; Yili

Huo XL, Qin J, Zhang W, Zhang WZ, Zhu XL, Dou YQ, Ye NN. Factors related to rate of *Helicobacter pylori* infection in patients with upper gastrointestinal tract diseases in Yili. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(16): 1568-1572
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1568.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1568

摘要

目的: 研究新疆伊犁地区各类上消化道疾病患者幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染情况以及与10年前本地区患各类上消化道疾病*H. pylori*感染情况对比分析.

方法: 有上消化道症状前来我院就诊的患者3925例, 其中男2183例, 女1742例, 所有患者均行胃镜检查并同时行^{14}C尿素呼气试验检查, 阳性者为*H. pylori*感染. 针对不同疾病种类、性别、年龄、族别、职业、生活地区分布进行分析. 并将现在的感染率与10年前的感染率进行对比分析.

结果: *H. pylori*总感染率为50.57%. 与10年前

■同行评议者
马欣, 主任医师, 甘肃省人民医院消化科; 邵先玉, 教授, 泰山医学院附属医院消化内科

本地区患各类上消化道疾病*H. pylori*感染率对比明显下降. 各年龄组*H. pylori*感染率有所不同; 汉族患者*H. pylori*感染率低于少数民族患者; 农村居民感染率高于城区和郊区居民感染率.

结论: *H. pylori*感染与民族、区域、年龄、经济水平、环境卫生等因素密切相关.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 幽门螺杆菌; 感染率; 上消化道疾病; 伊犁地区

核心提示: 目前确认幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是慢性胃炎、消化性溃疡的重要致病因子, 与胃黏膜相关性淋巴组织淋巴瘤(mucosa-associated lymphoid tissue)的发生有关, 将*H. pylori*定为第1类致癌因子. 本文针对新疆伊犁地区上消化道疾病患者*H. pylori*感染率相关因素及10年对比分析, 从而明确本地区人群*H. pylori*感染率与区域、民族、年龄、性别、经济水平、生活条件及环境卫生等因素均相关.

霍晓灵, 秦健, 张炜, 张文珍, 朱雪莲, 窦玉勤, 叶妮娜. 新疆伊犁地区上消化道疾病患者幽门螺杆菌感染率的相关因素. 世界华人消化杂志 2013; 21(16): 1568-1572 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1568.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i16.1568

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)研究已成为学术界的热点. 目前确认*H. pylori*是慢性胃炎、消化性溃疡的重要致病因子, 并可能与胃黏膜相关性淋巴组织淋巴瘤(mucosa-associated lymphoid tissue, MALT)的发生相关, 且与胃癌的发生也有着非常密切的关系[1]. 1994年世界卫生组织/国际癌症研究机构(WHO/IARC)将*H. pylori*定为第1类致癌因子, 并明确为胃癌的危险因素[2]. 1988年Correa等[3]提出胃癌的发生模式: “正常胃黏膜-慢性浅表性胃炎-慢性萎缩性胃炎-小肠型肠上皮化生-大肠型肠上皮化生-异型增生(中重度)-胃癌(肠型)”, 这是目前较为认可的胃癌进展模式. 由于*H. pylori*的存在可以诱导慢性萎缩性胃炎、肠化生、胃黏膜上皮内瘤变, 加速胃癌癌前病变癌变的速度, 根除*H. pylori*对于逆转胃癌癌前病变起到了关键的作用[4]. 流行病学调查提示, 不同国家和地区之间*H. pylori*感染可有显著差异, 新疆伊犁地区处于我国西北边陲. 社会经济状况与人民生活水平与内地省区相对落后, 各种消化系疾病的发病率均很高, 尤其新疆伊犁地区哈萨克族食管癌发病率很高, 为了解本地区*H. pylori*感染情况, 我们对来我院就诊的有上消化道疾病的门诊及住院的3925例患者进行^{14}C呼气试验, 并与10年前本地区*H. pylori*感染率对比研究分析, 以了解伊犁地区人群*H. pylori*感染状况及相关因素, 从而为临床有效的*H. pylori*防治措施提供科学依据.

■研发前沿
*H. pylori*是上消化道疾病发生的重要致病因子, 针对本地区消化系统疾病发病率高, 对新疆伊犁地区上消化道疾病患者*H. pylori*感染率及十年对比分析. 从而了解本地区*H. pylori*的感染率相关因素, 对临床消化系疾病的诊治具有一定指导意义.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2009-07/2012-06于我院就诊的有上消化道症状的门诊及住院患者3925例, 对每位患者均行胃镜检查并选择^{14}C呼气试验检查*H. pylori*(所有检查者应排除1 mo内服用过抗*H. pylori*感染药物, 如: 质子泵抑制剂、抗生素、铋剂和非甾体类抗炎药物, 并排除合并心、脑、肝、肾和造血系统等严重疾病者及严重精神疾病者, 如抑郁症、焦虑症以及妊娠和哺乳期患者)其中男2183例, 女1742例; 汉族2867例, 少数民族(维、哈萨克、回、蒙古)1058例.

1.2 方法

1.2.1 胃镜检查: 采用OLYMPUS-H260、140电子胃镜(日本), 胃镜诊断采用修订后的悉尼标准.

1.2.2 *H. pylori*感染率测定: 采用HUBT-01型^{14}C尿素呼气试验*H. pylori*测试仪(灵敏度90%-97%, 特异性89%-100%), 试剂盒采用尿素[^{14}C]微量胶囊; *H. pylori*感染率结果判断标准为, 每分钟衰变值(disintegration per minute, DPM)以^{14}C-DPM值≥100 dpm/(mmol)者为阳性, <100 dpm/(mmol)为阴性.

统计学处理 计数资料以例数和百分率进行描述, 分析方法采用χ^2检验, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 不同性别*H. pylori*感染率 *H. pylori*总感染率为50.57%(1985/3925); 男性*H. pylori*感染率50.98%(1113/2183), 女性*H. pylori*感染率为49.25%(872/1742), 性别比较感染率无统计学意义(χ^2 = 0.76, P>0.50)(表1).

2.2 *H. pylori*感染与年龄的关系 各年龄组*H. pylori*感染率不同, 21-30岁、31-40岁为最高峰, 自51岁后开始下降, 到71岁开始逐渐升高. 各年龄组感染率比较, 差异有统计学意义(χ^2 = 18.134, P<0.05, 表2)

2.3 汉族与少数民族*H. pylori*感染特点 3925例有

■创新盘点

本文主要针对处于新疆伊犁地区社会经济状况、生活习惯等与内地省区有所不同、且属多民族地区, 各种消化系疾病及食管癌发病率很高, 了解本地区*H. pylori*的感染率相关因素同时进行了十年对比分析, 为提高本地区根除*H. pylori*的治疗提供了科学依据.

表 1 不同性别组*H. pylori*感染率分布情况

性别	*n*	阳性(*n*)	阴性(*n*)	感染率(%)
男	2183	1113	1070	50.98
女	1742	872	870	49.25
合计	3925	1985	1940	50.57

表 2 各年龄组*H. pylori*感染率

年龄	*n*	阳性(*n*)	阴性(*n*)	感染率(%)
20岁以下	75	42	33	56
21–30岁	232	128	104	55.17
31–40岁	787	429	358	54.51
41–50岁	1015	523	492	51.53
51–60岁	598	291	307	48.66
61–70岁	731	330	401	45.14
71–80岁	433	213	220	49.19
81岁以上	54	29	25	53.7
合计	3925	1985	1940	50.57

消化系症状人群中, 汉族、少数民族(维、哈萨克、回、蒙古)*H. pylori*感染率差异(χ^2 = 80.800, *P*<0.005)有统计学意义(表3).

2.4 不同上消化道疾病与*H. pylori*感染的关系 不同消化系疾病*H. pylori*感染率不同, 其中十二指肠溃疡81.46%(334/410), 胃溃疡75.40%(285/378), 胃炎(包括浅表性、活动性及萎缩性胃炎)48.87%, 胃癌47.06%(32/68), 其他胃病(包括食管癌、反流性食管炎、胃息肉、残胃炎等)24.82%(表4).

2.5 不同生活地区*H. pylori*感染状况 3925例有消化系症状人群中, 城区居民1532例, 阳性者729例, *H. pylori*感染率47.56%; 郊区居民965例, 阳性者493例, *H. pylori*感染率48.91%; 农村居民1428例, 阳性者784例, 感染率54.87%. 农村居民感染率高于城区居民感染率, 差异有统计学意义(χ^2 = 15.836, *P*<0.005). 农村居民感染率高于郊区居民感染率, 差异有统计学意义(χ^2 = 8.226, *P*<0.005). 城区与郊区感染率无统计学意义(χ^2 = 0.418, *P*>0.05)(表5).

2.6 与10年前*H. pylori*感染状况的对比 1997-06/1998-02伊犁地区患各类胃部疾病*H. pylori*总感染率为61.9%, 其中消化性溃疡*H. pylori*感染率为81.74%, 慢性胃炎*H. pylori*感染率为55.69%, 胃癌*H. pylori*感染率为57.2%[5]. 2009-07/2012-06本地区上消化道疾病患者*H. pylori*总感染率为50.57%, 消化性溃疡*H. pylori*感染率为78.55%,

表 3 汉族与少数民族*H. pylori*感染

民族	*n*	阳性(*n*)	阴性(*n*)	阳性率(%)
少数民族	1058	660	398	62.38
汉族	2867	1325	1542	46.21
总合	3925	1985	1940	50.57

表 4 不同消化系疾病*H. pylori*感染率

疾病	*n*	阳性(*n*)	阳性率(%)
十二指肠溃疡	410	334	81.46
胃溃疡	378	285	75.40
胃炎	2380	1163	48.87
胃癌	68	32	47.06
其他胃病	689	171	24.82
合计	3925	1985	50.57

胃炎感染率*H. pylori*为48.87%, 胃癌*H. pylori*感染率为47.06%, 总感染率及部分疾病*H. pylori*感染率均较前明显下降(表6, 7).

3 讨论

有资料研究报道表明, 我国*H. pylori*感染率平均为55%[6], 在不同国家之间、同一国家的不同地区、不同种族之间*H. pylori*感染率存在着明显的差异(1.0%-79%)[7]. 本研究显示新疆伊犁地区有上消化道疾病患者*H. pylori*感染阳性率为50.57%, 略低于全国平均感染率, 但高于我国普通人群*H. pylori*感染率底线水平[8], 也高于新疆谢会忠等报道的*H. pylori*感染率[9]. 这与伊犁地区经济、生活水平以及区域等有关. 男性感染率略高于女性, 二者比较无显著差异, 有统计学意义, 与相关报道一致[7,8]. 本研究显示*H. pylori*感染率在各年龄的分布有以下特点, 20岁以下患者感染率为56%, 21-30岁、31-40岁为最高峰, 分别为55.17%和54.51%. 此年龄段正值青壮年, 社交、应酬、聚餐最多, 并与无分餐饮食习惯造成交叉感染有关[10]. 41-50岁为51.53%、51-60岁、61-70岁分别为48.66%和45.14%. 自51岁后开始下降, 到71岁开始逐渐升高. 20岁以下患者感染率较高, 考虑与样本较少有关, 及与其中儿童人员为易感人群, 与儿童胃酸分泌过少、免疫力低下有关. 流行病学显示, 50%以上成人*H. pylori*相关疾病患者其*H. pylori*感染是在儿童期获得.

有关*H. pylori*感染与民族的关系, 据文献报道彝族、藏族、维族、白族等少数民族人群感

表 5 城区、郊区、农村*H. pylori*感染率

生活地区	*n*	阳性(*n*)	阴性(*n*)	感染率(%)
城区	1532	729	803	47.56
郊区	965	472	493	48.91
农村	1428	784	644	54.87
合计	3925	1985	1940	50.57

表 6 1997-06/1998-02与2009-07/2012-06 *H. pylori*的感染率

时间段	*n*	阳性数(*n*)	感染率(%)
1997-06/1998-02	917	568	61.9
2009-07/2012-06	3925	1985	50.57

表 7 1997-06/1998-02与2009-07/2012-06 *H. pylori*感染率比较 (%)

时间段	消化性溃疡 *H. pylori* 感染率	胃炎 *H. pylori* 感染率	胃癌 *H. pylori* 感染率
1997-06/1998-02	81.74	55.69	57.2
2009-07/2012-06	78.55	48.87	47.06

染率为53.00%-66.80%, 本次调查少数民族感染率为62.38%, 明显高于汉族*H. pylori*感染率, 两者比较有统计学意义. 本地区少数民族大多数居住在农牧区. 可能与不同的民族背景、生活方式、饮食习惯以及居住条件、生活环境等复杂 因素有关[9-11]. 并有报道*H. pylori*感染率的差别可能与遗传因素有关. 本次研究浅表性胃炎、胃溃疡、十二指肠溃疡及胃癌中*H. pylori*感染率分别为48.87%、75.40%、81.46%、47.06%, 本研究结果与文献报道[9]基本一致. 其中消化性溃疡*H. pylori*感染率明显>50%, 因此认为消化性溃疡与*H. pylori*的感染有密不可分的关系, *H. pylori*的感染增加了胃十二指肠溃疡的危险性[12].

本次研究农村*H. pylori*感染率为54.87%, 明显高于郊区、城区, 有统计学意义, 表明*H. pylori*的感染受经济状况、居住、卫生条件差及密切生活接触等因素有关, 导致*H. pylori*经口-口、粪-口传播的可能性加大, 这与胡伏莲[13]、王凯娟等[14]的报道一致.

1997-06/1998-02与2009-07/2012-06新疆伊犁地区上消化道疾病患者*H. pylori*感染率分别为61.9%、50.57%, 相比较10年来, 本地区上消化道疾病患者*H. pylori*感染率明显下降, 可能与本地区经济水平的提高、环境卫生及生活条件的不断改善、人们健康意识的提高以及对*H. pylori*感染认识增强有关, 更重要的是普及了有上消化道疾病的患者进行*H. pylori*的检测, 并不断规范了根除*H. pylori*的治疗等方面均有关[15].

本研究显示, *H. pylori*的感染率与区域、民族、年龄、性别、经济水平、生活条件及环境卫生等因素均相关, *H. pylori*感染是形成萎缩性胃炎以及向胃癌转化的重要促进因素. 通过对*H. pylori*检测, 对*H. pylori*阳性者采取积极有效的根除治疗, 对萎缩性胃炎的发生和对胃癌的早期预防具有重要意义[16]. 因此, 通过大力健康宣教, 提高对*H. pylori*感染危害的认识, 开展*H. pylori*的检测, 积极根除*H. pylori*感染, 在上消化道疾病的诊治中应重视本地区的*H. pylori*感染情况和特点, 起到预防及治疗的积极作用, 从而减少胃癌的发生.

■应用要点

了解新疆伊犁地区*H. pylori*的感染率与区域、民族、年龄、性别、经济水平、生活条件及环境卫生等因素均相关. 提高对*H. pylori*感染危害的认识, 重视本地区*H. pylori*的感染情况和特点, 开展*H. pylori*的检测和规范根除治疗, 起到积极预防及治疗的作用.

4 参考文献

1 萧树东, 许国铭. 中华胃肠病学. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 276
2 Mégraud F. H pylori antibiotic resistance: prevalence, importance, and advances in testing. *Gut* 2004; 53: 1374-1384 [PMID: 15306603]
3 Correa P, Haenszel W, Cuello C, Tannenbaum S, Archer M. A model for gastric cancer epidemiology. *Lancet* 1975; 2: 58-60 [PMID: 49653]
4 范尧夫, 魏睦新. 胃癌癌前病变的研究进展及防治对策. 世界华人消化杂志 2012; 20: 1807-1812
5 霍晓灵, 李霞. 伊犁地区患各类胃部疾病感染幽门螺杆菌阳性率的研究分析. 农垦医学 1999; 21: 179-180
6 世界胃肠病学组织(WGO-OMGE)临床指南-发展中国家幽门螺杆菌感染. 胃肠病学 2007; 12: 41
7 Moran AP. Relevance of fucosylation and Lewis antigen expression in the bacterial gastroduodenal pathogen Helicobacter pylori. *Carbohydr Res* 2008; 343: 1952-1965 [PMID: 18279843]
8 中华医学会消化病学分会. 对幽门螺杆菌若干问题的共识意见(2003.中国). 中华医学杂志 2004; 84: 522
9 艾斯凯尔•阿斯木, 麦麦提图尔荪•麦麦提, 麦地尼也提, 谢会忠. 新疆维、汉、哈族有消化道症状患者幽门螺杆菌感染率分布特征与高危因素及相关疾病的分析. 新疆医学 2012; 42: 4-9
10 Rodriguez-Diaz E, Bigio IJ, Singh SK. Integrated Optical Tools for Minimally Invasive Diagnosis and Treatment at Gastrointestinal Endoscopy. *Robot Comput Integr Manuf* 2011; 27: 249-256 [PMID: 21152112]
11 Celiński K, Kurzeja-Mirosław A, Słomka M, Cichoz-Lach H, Madro A, Kasztelan-Szczerbińska B. The effects of environmental factors on the prevalence of Helicobacter pylori infection in inhabitants of Lublin Province. *Ann Agric Environ Med* 2006; 13: 185-191 [PMID: 17195990]
12 周文斌, 李志英. 上消化道疾病患者幽门螺杆菌感染情况分析. 中华医院感染学杂志 2012; 22: 962-963
13 胡伏莲. 幽门螺杆菌感染治疗中的问题及其处理策略.

■同行评价
本文思路清晰、内容丰富, 方法科学、先进, 统计学分析结果明确, 研究有一定深度. 对本地区消化系疾病的诊治有一定指导意义.

中国中西医结合杂志 2010; 3: 229-232
14 王凯娟, 王润田. 中国幽门螺杆菌流行病学Meta分析. 中华流行病学杂志 2003; 24: 443-446
15 Malfertheiner P, Mégraud F, O'Morain C, Hungin AP, Jones R, Axon A, Graham DY, Tytgat G. Current concepts in the management of Helicobacter pylori infection--the Maastricht 2-2000 Consensus Report. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 167-180 [PMID: 11860399]
16 Lee CW, Rickman B, Rogers AB, Ge Z, Wang TC, Fox JG. Helicobacter pylori eradication prevents progression of gastric cancer in hypergastrinemic INS-GAS mice. *Cancer Res* 2008; 68: 3540-3548 [PMID: 18441088]

编辑 田滢 电编 闫晋利

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

• 消息 •

WJG 成功通过评审被 PMC 收录

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

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

世界华人消化杂志 2013年6月8日; 21(16): Ⅰ-Ⅴ
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《世界华人消化杂志》投稿须知

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊.

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569)》是一份同行评议和开放获取期刊(Open Access Journal, OAJ), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版. 《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区.

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病学, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章. 最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病学实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平.

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group, BPG)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上. OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊. 论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本. BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑.目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平.

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录. 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号. 《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊.

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

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals). 见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47.

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称. 医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文. 公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录.

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等. 为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上. 中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤). 通常应小写.

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

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量. 如 30 kD改为M_r 30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即A_r(A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体). 计量单位在+、－及-后列出. 在±前后均要列出, 如37.6 ℃±1.2 ℃, 45.6岁±24岁, 56.4 d±0.5 d. 3.56±0.27 pg/ml应为3.56 ng/L±0.27 ng/L. BP用kPa(mmHg), RBC数用1×10^{12}/L, WBC数用1×10^{9}/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. M_r明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm×6 cm×4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO_2结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1×10^{-3} g与5×10^{-7} g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg•d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO_2, 50 mL/L CO_2; 1∶1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45×10^{-6}; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示.

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ^2; (4)样本的

相关系数用英文小写r; (5)自由度用希文小写υ; (6)样本数用英文小写n; (7)概率用英文斜体大写P. 在统计学处理中在文字叙述时平均数±标准差表示为mean±SD, 平均数±标准误为mean±SE. 统计学显著性用$^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套P值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第三套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L±0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6 347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的mean±SD应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g±420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg±0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm±0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48→23.5→24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母≤100, 百分数到个位; 101≤分母≤1 000, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名，按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wcjd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版.

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致.

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号. 格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”.

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码. 例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致.

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象. 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度. 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征. 如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准. 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写*P*, 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值).

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 正文内序号连排用(1), (2), (3). 以下逐条陈述.

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系.

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可.

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论.

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾.

图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …. 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: $^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第3套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$. *P*值后注明何种检验及其具体数字, 如$P<0.01$, $t = 4.56$ *vs* 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用*t*/min, *c*/(mol/L), *p*/kPa, *V*/mL, *t*/℃表达.

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上

角注码号. 如马连生[1]报告……, 潘伯荣等[2-5]认为……; PCR方法敏感性高[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部),书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp

4.2 研究原著写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp

4.3 焦点论坛写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp

4.4 文献综述写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp

4.5 研究快报写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp

4.6 临床经验写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcjy.asp

4.7 病例报告写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx. 无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投稿须知下载网址http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf. 审稿过程平均时间需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审.

6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删节时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有.

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

http: //www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进.

世界华人消化杂志 2013年6月8日; 21(16): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26
美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会
会议地点: 美国旧金山
联系方式: www.gicasym.org

2013-02-10/15
2013年肠道微生物组: 免疫网络效应/法规Keystone Symposia会议
会议地点: 美国
联系方式: info@keystonesymposia.org

2013-02-09/12
美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周(CNW 2013)
会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城
联系方式: http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508

2013-02-22/23
国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会
会议地点: 美国休斯顿
联系方式: http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1]

2013-02-22/23
迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议
会议地点: 美国
联系方式: cme.med.miami.edu/x88.xml

2013-03-01/31
2013年北京第七届疝和腹壁外科国际学术研讨会
会议地点: 北京市
联系方式: zhshfbwkzz@yahoo.com.cn

2013-03-01/04
2013加拿大消化疾病周(CDDW)
会议地点: 加拿大
联系方式: www.cag-acg.org/cddw

2013-03-07/10
亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议
会议地点: 新加坡
联系方式: www.apaslconference.org

2013-03-15/17
2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛
会议地点: 深圳市
联系方式: ewancool@hotmail.com

2013-03-14/16
中部外科学会(CSA)2013年会
会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛
联系方式: http://www.centralsurg.org/meeting/futuremtgs.html

2013-04-12/14
2013中国肛肠创新论坛(CICS)
会议地点: 北京市
联系方式: www.crdinnovation.com

2013-04-19/23
2013第2届国际肿瘤学论坛
会议地点: 瑞士
联系方式: cihexpo@163.com

2013-05-23/25
2013第六届世界癌症大会
会议地点: 西安市
联系方式: bithuiyi@163.com

2013-05-20/22
2013年第三届内分泌与代谢大会
会议地点: 西安市
联系方式: nancy@bitconferences.cn

2013-05-31/06-04
2013美国临床肿瘤协会年会
会议地点: 美国芝加哥
联系方式: yangxinxue999@163.com

2013-06-07/09
中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤营养与支持治疗学术会议
会议地点: 武汉市
联系方式: csonsc@VIP.163.com

2013-06-21/23
中国消化科学术论坛
会议地点: 张家界市
联系方式: casgmail@126.com

2013-07-13/14
中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会
会议地点: 银川市
联系方式: lilyjia@163.com

2014-09-26/30
第39届欧洲临床肿瘤学会年会
会议地点: 西班牙
联系方式: http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html

2013-10-18/20
第二十二届亚太抗癌大会
会议地点: 天津市
联系方式: secretariat@apcc2013.com

世界华人消化杂志 2013年6月8日; 21(16): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

陈国忠 主任医师
广西医科大学消化内科

陈卫昌 教授
苏州大学附属第一医院消化内科

崔云甫 教授
哈尔滨医科大学第二附属医院普外一科

党双锁 教授
西安交通大学医学院第二附属医院感染科

杜奕奇 副教授
中国人民解放军第二军医大学长海医院

樊红 教授
东南大学基础医学院遗传与发育生物学系

冯志杰 主任医师
河北医科大学第二医院消化内科

傅思源 副教授
东方肝胆外科医院肝外三科

顾国利 副主任医师
中国人民解放军空军总医院普通外科

郭永红 副主任医师
西安交通大学医学院第二附属医院传染病学

黄恒青 主任医师
福建省第二人民医院消化内科

江建新 副主任医师
贵阳医学院附属医院肝胆胰脾外科

李瑜元 教授
广州市第一人民医院内科

门秀丽 教授
河北联合大学(原华北煤炭医学院)病理生理学教研室

刘宝林 教授
中国医科大学附属盛京医院

刘炳亚 研究员
上海交通大学医学院附属瑞金医院上海消化外科研究所

刘丽江 教授
江汉大学医学院

门秀丽 教授
河北联合大学(原华北煤炭医学院)病理生理学教研室

彭亮 副主任医师
中山大学附属第三医院感染病学

彭宗根 副研究员
中国医学科学院北京协和医学院医药生物技术研究所

邱伟华 主任医师
上海交通大学医学院附属瑞金医院普外科

任粉玉 教授
吉林省延边大学附属医院消化内科

汤华 研究员
重庆医科大学感染性疾病分子生物学教育部重点实验室

王道荣 主任医师
江苏省苏北人民医院胃肠外科

王德盛 副主任医师
中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆外科

王文跃 主任医师
中日友好医院普通外科

吴君 主任医师
贵阳医学院附属医院感染科

袁建业 副研究员
上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

张占卿 主任医师
上海市复旦大学公共卫生中心肝脏病学、传染病学

张志坚 教授
福州总医院消化内科

世界华人消化杂志
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《**世界华人消化杂志**》入编《中文核心期刊要目总览》2011 年版（即第六版）之 **临床医学/特种医学类** 的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了 73 个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN 号、CN 号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被索量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web 下载量等 9 个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到 60 余种，统计到的文献数量共计 221177 余万篇次，涉及期刊 14400 余种。参加核心期刊评审的学科专家达 8200 多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出 1982 种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂

撰安

《中文核心期刊要目总览》2011 年版编委会

代章：

2012 年 1 月





百世登

Baishideng®

Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,
315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com



 © 2013 Baishideng. All rights reserved.

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

世界华人消化杂志

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2013 年 6 月 18 日　第 21 卷　第 17 期　(Volume 21 Number 17)



17/2013

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

ISSN 1009-3079
17>
9 771009 307056

世界华人消化杂志　www.wjgnet.com　二零一三年六月十八日　第二十一卷　第十七期

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

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

总顾问

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

名誉主编

潘伯荣教授

主编

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

编委

消化内科学

白爱平副教授
白岚教授
卜平教授
陈国忠主任医师
陈洪副教授
陈其奎教授
陈卫昌教授
陈贻胜教授
程斌教授
迟宝荣教授
崔立红教授
邓鑫教授
丁士刚教授
董蕾教授
杜雅菊主任医师
杜奕奇副教授
樊冬梅副主任医师
樊晓明教授
房静远教授
冯志杰主任医师
傅春彬主任医师
甘华田教授
高凌副教授
戈之铮教授
关玉盘教授
关晓辉主任医师
郭晓钟教授
郝建宇教授
郝丽萍副教授
何继满教授
何松教授
洪天配教授
黄培林教授
黄晓东主任医师
黄颖秋教授
黄缘教授
季国忠教授
江米足教授
姜春萌教授
姜慧卿教授
姜相君主任医师
金瑞教授
蓝宇教授
李淑德教授
李瑜元教授
李玉民教授
廖家智副主任医师
林志辉教授
刘冰熔教授
刘凤斌教授
刘改芳主任医师
刘海峰主任医师
刘海林主任医师
刘亮明副教授
陆伦根教授
马红主任医师
马欣主任医师
毛恩强教授
毛高平教授
孟庆华教授
缪应雷主任医师
倪润洲教授
欧希龙副教授
潘秀珍教授
潘阳林副教授
朴云峰教授
秦成勇教授
任粉玉教授
任建林教授
邵先玉教授
沈琳主任医师
沈薇教授
施瑞华教授
宋军副教授
唐世刚教授
田宇彬教授
度必光教授
宛新建副教授
王邦茂教授
王炳元教授
王承党教授
王江滨教授
王俊平教授
王蔚虹教授
王晓艳副教授
夏冰教授
夏时海副教授
徐灿霞教授
徐可树教授
杨建民教授
张国主任医师
姚树坤教授
张国梁主任医师
张军教授
张庆瑜教授
张小晋主任医师
张筱茵副教授
张志坚教授
郑培永教授
郑鹏远教授
郑素军副主任医师
郑勇教授
周国雄主任医师
周宇教授
邹晓平主任医师
诸琦教授
于珮主任医师

消化外科学

白雪副主任医师
白雪巍副主任医师
白玉作教授
蔡开琳副教授
蔡三军主任医师
曹杰主任医师
陈炳官教授
陈光教授
陈海龙教授
陈积圣教授
陈进宏副主任医师
陈凛教授
陈汝福教授
陈亚军主任医师
陈钟教授
程爱国教授
程树群副教授
崔云甫教授
戴朝六教授
戴冬秋教授
丁义涛教授
杜顺达副教授
房林教授
傅红副教授
傅华群教授
傅思源副教授
傅晓辉副教授
傅志仁主任医师
高毅主任医师
葛海燕教授
巩鹏副教授
谷俊朝主任医师
顾国利副主任医师
顾岩教授
韩天权教授
郝纯毅主任医师
郝立强副教授
何超教授
何向辉教授
何晓顺教授
何裕隆教授
胡安斌副教授
黄志勇教授
季加孚教授
英卫东教授
姜波健教授
金山主任医师
康春博副主任医师
孔静副教授
黎乐群教授
李革副教授
李国威教授
李华副教授
李华山主任医师
李升平教授
李胜研究员
李涛副主任医师
李文岗教授
李小荣教授
李旭副教授
李永翔教授
李正荣副教授
李志霞教授
李宗芳教授
梁力建教授
刘宝林教授
刘超教授
刘宏鸣副教授
刘建教授
刘亮副主任医师
刘颖斌主任医师
卢军华教授
陆云飞教授
禄韶英副教授
吕凌副教授
吕云福教授
麻勇副研究员
齐清会教授
秦春宏副主任医师
秦华东教授
秦环龙教授
秦建民主任医师
邱伟华主任医师
仇毓东教授
崔清波副教授
单云峰副主任医师
沈柏用副教授
施宝民教授
施诚仁教授
施晓雷副主任医师
石毓君副研究员
宋新明教授
宋振顺教授
孙诚谊教授
孙文兵教授
孙星副教授
孙学英教授
邰升副教授
谭晓冬教授
汤朝晖副主任医师
汤绍涛教授
唐南洪教授

世界华人消化杂志®

编辑委员会

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

消化感染病学

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

消化中医药学

陈治水主任医师
杜群副研究员
扈晓宇主任医师
黄恒青主任医师
李军祥教授
李康副教授
李晓波教授
李勇副教授
李振华教授
刘成海研究员
刘绍能主任医师
鲁玉辉副教授
南极星教授
牛英才研究员
谭周进教授
王富春教授
王来友副教授
王笑民主任医师
邢建峰副教授
徐列明教授
许玲教授
徐庆教授
袁红霞研究员
张声生教授

消化肿瘤学

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

消化影像学

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

消化内镜及介入治疗学

郝俊鸣副主任医师
李家平教授
刘杰民副主任医师
茅爱武教授
孙明军教授
万军教授
吴沛宏教授
余日胜主任医师
袁友红副教授
张火俊副教授

消化中西医结合学

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

消化基础研究

曹洁副教授
曹鹏副研究员
陈敬贤教授
陈志龙教授
崔莲花副教授
段义农教授
樊红教授
高国全教授
高英堂研究员
管冬元副教授
郭长江研究员
郭俊明教授
何红伟副研究员
何敏教授
黄昆教授
黄文林教授
黄园教授
洪艳教授
李刚教授
李君文研究员
李孟森教授
李文贵副教授
李焱副研究员
李增山副教授
刘长征副教授
刘克辛教授
刘森副教授
宁钧宇副研究员
彭宗根副研究员
任超世研究员
任浩副教授
任晓峰副教授
邵华副主任药师
沈东炎副教授
沈涛副教授
斯坎德尔·白克力教授
台桂香教授
谭学瑞教授
汤静主管药师
滕旭副教授
田文静副教授
汪思应教授
王钦红教授
王书奎教授
魏继福研究员
文彬研究员
吴道澄教授
吴江锋副教授
吴军研究员
吴俊华副教授
吴志强副教授
夏敏教授
徐健副主任医师
徐宁志研究员
许文燮教授
杨晓明教授
阴赪宏研究员
郁卫东副研究员
喻荣彬教授
曾柱教授
张红教授
张淑坤副研究员
赵平教授
赵铁建教授
周南进研究员
周素芳教授
周晓武副主任医师
朱益民教授
竺亚斌研究员

消化病理学

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

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目　次 ●　2013 年 6 月 18 日　第 21 卷　第 17 期　(总第421期)

述　评

1573 氧化应激在肝纤维化中的作用及治疗对策
李俊峰, 郑素军, 段钟平

基础研究

1579 Smo siRNA对裸鼠食管癌移植瘤细胞凋亡的影响
孙海斌, 张虎, 丁胭脂, 张红, 陈奎生

1589 CD4、CD8和IL-2在海洛因戒断、复吸大鼠胃窦的表达
夏白娟, 梁文妹, 李一欣, 洪艳, 韩晶, 胡赟

1595 基质金属蛋白酶纤溶系统在大鼠酒精性肝纤维化形成中的作用
陈珺明, 田淑霞, 邢练军, 郑培永, 季光

1602 射频消融干预下兔VX2肿瘤病理学与凋亡的评估
张振华, 邝晓聪, 杨红, 彭金波, 覃肖溪, 赵国志

临床研究

1607 ALT小于2倍正常上限的HBeAg+/-慢性HBV感染者肝脏病理及临床分析196例
耿晓霞, 林健梅, 杨兴祥, 黄仁刚, 江南

文献综述

1616 EB病毒与胃癌发生的研究进展
郭欢, 王涛, 苏海翔

1623 中药单体逆转肿瘤多药耐药的研究进展
王炜, 黄赞松, 黄衍强, 周喜汉

1630 幽门螺杆菌外排泵的研究进展
吴明慧, 黄赞松, 黄衍强

研究快报

1636 慢病毒介导的*E2F-1*沉默对人胃癌细胞MGC803中药人参黄芪复方药物敏感性的影响
罗文, 吴锟, 王晓通, 谢玉波, 肖强

1642 肠上皮细胞来源的整合素αVβ6对肠道树突状细胞TGF-β1表达的影响
李凯, 郑鹏远, 刘志强, 陈东晖

1649 亚砷酸钠对大鼠骨髓间充质干细胞的过氧化损伤
吕海龙, 李思源, 慕晓玲, 姜玉峰

1654 高脂饮食对胃旁路术后2型糖尿病大鼠糖代谢及GLP-1的影响
王浩, 赵滢

临床经验

1660 非酒精性脂肪肝患者脂联素基因-4522位点的单核苷酸多态性
张炜, 朱丽群, 蒋小猛, 曹亮, 程兆明, 徐岷

1664 精准肝切除治疗原发性肝癌临床疗效的系统评价
李振华, 侯元凯, 张东

1670 梗阻性黄疸患者肠黏膜损伤与肠黏膜IL-6、NF-κB、ICAM-1高表达的相关性
纪晨光, 姜慧卿

1676 凋亡调节因子Smac、Survivin在结肠腺癌中的表达及临床意义
宋国华, 李维山, 高凤兰

1681 双气囊小肠镜对老年人不明原因消化系出血的诊断价值
金晓维, 朱鸣, 唐杰, 毛高平, 宁守斌

附　　录	I－V　《世界华人消化杂志》投稿须知 I　2013年国内国际会议预告
志　　谢	I　志谢世界华人消化杂志编委
消　　息	1588　中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 1601　《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 1615　2012年度《世界华人消化杂志》发文情况 1622　《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 1629　《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 1635　中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 1648　《世界华人消化杂志》栏目设置 1659　《世界华人消化杂志》参考文献要求 1675　《世界华人消化杂志》外文字符要求 1684　《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费
封面故事	《世界华人消化杂志》编委, 郑素军, 副教授, 副主任医师, 100069, 北京市, 首都医科大学附属北京佑安医院人工肝中心
本期责任人	编务 车新鑫; 送审编辑 鲁亚静, 闫晋利; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 黄新珍; 形式规范审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平　题写封面刊名
陈可冀　题写版权刊名

(旬刊)

创　刊 1993-01-15
改　刊 1998-01-25
出　版 2013-06-18
原刊名 新消化病学杂志

期刊名称
世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

主编
程英升, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心
党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科
江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科
刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科
刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科
吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科
马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科
王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科
姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心
张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部
田滢, 主任
《世界华人消化杂志》编辑部
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室
电话: 010-59080035
传真: 010-85381893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

出版
百世登出版集团有限公司
Baishideng Publishing Group Co., Limited
Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

制作
北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室
电话: 010-85381892
传真: 010-85381893

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

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

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

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

定价
每期68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归Baishideng所有

World Chinese Journal of Digestology

June 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 17

EDITORIAL

1573 Liver fibrosis: Role of oxidative stress and therapeutic countermeasures
Li JF, Zheng SJ, Duan ZP

BASIC RESEARCH

1579 SiRNA-mediated Smoothened gene silencing induces tumor cell apoptosis in a nude mouse model bearing human esophageal carcinoma
Sun HB, Zhang H, Ding YZ, Zhang H, Chen KS

1589 Expression of CD4, CD8 and IL-2 in the gastric antrum of rats during heroin abstinence and relapse
Xia BJ, Liang WM, Li YX, Hong Y, Han J, Hu Y

1595 Role of matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of metalloproteinases type-1 in the development of alcoholic liver fibrosis in rats
Chen JM, Tian SX, Xing LJ, Zhen PY, Ji G

1602 Pathological changes and cell apoptosis in rabbit VX2 liver tumors after radiofrequency ablation
Zhang ZH, Kuang XC, Yang H, Peng JB, Qin XX, Zhao GZ

CLINICAL RESEARCH

1607 Liver histopathology and clinical manifestations between HBeAg-positive and -negative patients with chronic HBV infection and mildly elevated ALT level (less than two-time up limit of normal): An analysis of 196 cases
Geng XX, Lin JM, Yang XX, Huang RG, Jiang N

REVIEW

1616 Epstein-Barr virus and gastric cancer
Guo H, Wang T, Su HX

1623 Progress in research of Chinese herbal monomers reversing multidrug resistance of tumor cells
Wang W, Huang ZS, Huang YQ, Zhou XH

1630 Progress in research of *Helicobacter pylori* efflux pumps
Wu MH, Huang ZS, Huang YQ

RAPID COMMUNICATION

1636 Lentivirus-mediated *E2F-1* gene silencing enhances sensitivity of gastric carcinoma MGC-803 cells to compound ginseng and astragalus
Luo W, Wu K, Wang XT, Xie YB, Xiao Q

1642 Influence of intestinal epithelial integrin $\alpha V\beta 6$ on TGF-$\beta 1$ expression in intestinal dendritic cells
Li K, Zheng PY, Liu ZQ, Chen DH

1649 $NaAsO_2$ induces cytotoxicity to rat bone marrow mesenchymal stem cells
Lv HL, Li SY, Mu XL, Jiang YF

1654 Effect of a high-fat diet on glucose/lipid metabolism and GLP-1 secretion in rats with type 2 diabetes after gastric bypass surgery
Wang H, Zhao Y

CLINICAL PRACTICE

1660 The -4522 C/G single nucleotide polymorphism of the adiponectin gene in patients with nonalcoholic fatty liver disease
Zhang W, Zhu LQ, Jiang XM, Cao L, Cheng ZM, Xu M

1664 Efficacy of precise hepatectomy in treatment of primary liver cancer: A Meta-analysis
Li ZH, Hou YK, Zhang D

1670 High expression of IL-6, NF-κB and ICAM-1 in the intestinal mucosa is associated with intestinal mucosal injury in patients with obstructive jaundice
Ji CG, Jiang HQ

1676 Clinical significance of expression of Smac and Survivin in colon adenocarcinoma
Song GH, Li WS, Gao FL

1681 Diagnostic value of double balloon endoscopy in obscure gastrointestinal bleeding in elderly patients
Jin XW, Zhu M, Tang J, Mao GP, Ning SB

APPENDIX	I – V Instructions to authors of *World Chinese Journal of Digestology* I Meeting events calendar in 2013
ACKNOWLEDGMENT	I Acknowledgments to reviewers of *World Chinese Journal of Digestology*
COVER	Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology,* Sun-Jun Zheng, Associate Professor, Associate Chief Physician, Artificial Liver Center, Beijing Youan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100069, China
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: *Xin-Xin Che* Review Editor: *Ya-Jing Lu, Jin-Li Yan* Electronic Page Editor: *Ya-Jing Lu* English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Editor-in-Charge: *Xin-Zhen Huang* Proof Editor: *Ying Tian* Layout Editor: *Lian-Sheng Ma*

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

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date June 18, 2013

NAME OF JOURNAL
World Chinese Journal of Digestology

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

EDITOR-IN-CHIEF
Ying-Sheng Cheng, Professor, Medical Imaging Center, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China
Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China
Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China
Lian-Xin Liu, Professor, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China
Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China
Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hang-zhou 310006, Zhejiang Province, China
Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China
Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China
Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China
Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

EDITORIAL OFFICE
Ying Tian, Director
World Chinese Journal of Digestology
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-59080035
Fax: +86-10-85381893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

PUBLISHER
Baishideng Publishing Group Co., Limited
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,
315-321 Lockhart Road, Wan Chai,
Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188
E-mail: bpg@baishideng.com
http://www.wjgnet.com

PRODUCTION CENTER
Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu,
Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-85381892
Fax: +86-10-85381893

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

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

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

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2013年6月18日; 21(17): 1573-1578
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

述评 EDITORIAL

氧化应激在肝纤维化中的作用及治疗对策

李俊峰, 郑素军, 段钟平

李俊峰, 兰州大学第一医院 甘肃省兰州市 730000
李俊峰, 郑素军, 段钟平, 首都医科大学附属北京佑安医院人工肝中心 北京市 100069
李俊峰, 主要从事肝脏疾病的基础与临床研究.
“艾滋病和病毒性肝炎等重大传染病防治”科技重大专项基金资助项目, No. 2013ZX10002002-006-001
北京市卫生系统高层次卫生技术人才基金资助项目, No. 2011-3-083
佑安肝病艾滋病基金科研课题基金资助项目, No. BJYAH-2011-045
首都卫生发展科研专项基金资助项目, No. 首发2011-2018-04
作者贡献分布: 本文由李俊峰、郑素军及段钟平合作完成.
通讯作者: 郑素军, 副教授, 硕士生导师, 100069, 北京丰台区右安门外西头条8号, 首都医科大学附属北京佑安医院人工肝中心. zhengsujun003@126.com
电话: 010-63291007
收稿日期: 2013-04-11 修回日期: 2013-05-14
接受日期: 2013-05-19 在线出版日期: 2013-06-18

Liver fibrosis: Role of oxidative stress and therapeutic countermeasures

Jun-Feng Li, Su-Jun Zheng, Zhong-Ping Duan

Jun-Feng Li, the First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu Province, China
Jun-Feng Li, Su-Jun Zheng, Zhong-Ping Duan, Artificial Liver Center, Beijing Youan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100069, China
Supported by: the National Science and Technology Key Project on “Major Infectious Diseases such as HIV/AIDS, Viral Hepatitis Prevention and Treatment”, No. 2013ZX10002002-006-001; the High Technical Personnel Training Foundation of Beijing Health System, No. 2011-3-083; the Liver Disease and AIDS Research Fund of YouAn, No. BJYAH-2011-045; the Capital Health Development Research Fund, No. 2011-2018-04
Correspondence to: Su-Jun Zheng, Associated Professor, Artificial Liver Center, Beijing Youan Hospital, Capital Medical University, 8 Xitoutiao Youanmenwai, Fengtai District, Beijing 100069, China. zhengsujun003@126.com
Received: 2013-04-11 Revised: 2013-05-14
Accepted: 2013-05-19 Published online: 2013-06-18

Abstract

A variety of factors can lead to chronic inflammation of the liver and thus the occurrence of liver fibrosis. The activation of hepatic stellate cell (HSC) plays a key role in the pathogenesis of liver fibrosis. Activated HSC exhibit characteristic changes in the morphology and function and promote the development of liver fibrosis. Intrahepatic oxidative stress injury is an important mechanism involved in HSC activation and hepatic collagen deposition. There is a close relationship between liver fibrosis and oxidative stress levels. Reducing the levels of oxidative stress has gradually become an aim of antifibrotic therapy. In this paper we review recent progress in research of oxidative stress, liver fibrosis and its therapeutic strategies.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Liver fibrosis; Hepatic stellate cells; Oxidative stress; Strategy

Li JF, Zheng SJ, Duan ZP. Liver fibrosis: Role of oxidative stress and therapeutic countermeasures. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(17): 1573-1578 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1573.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i17.1573

摘要

多种因素可以导致肝脏发生慢性炎性病变, 进而可导致肝纤维化的发生, 其中的关键是肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)的活化. 活化的HSC发生形态和功能上的变化, 促进肝纤维化的发展. 肝内氧化应激损伤作为重要机制之一, 参与到了HSC活化和肝内胶原成分的沉积, 与肝纤维化之间有密切的关系. 而针对降低氧化应激水平的治疗手段也逐渐应用于临床, 发挥抗肝纤维化的作用. 鉴于此, 本文从近几年氧化应激与肝纤维化研究和治疗对策出发, 介绍该领域研究进展.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 肝纤维化; 肝星状细胞; 氧化应激; 策略

核心提示: 氧化应激参与肝纤维化病理过程, 在不同病因所致的肝纤维化中, 氧化应激作用不同, 目前的研究提示一些药物可能通过抗氧化的作用进而阻止肝纤维化的进展.

李俊峰, 郑素军, 段钟平. 氧化应激在肝纤维化中的作用及治疗对策. 世界华人消化杂志 2013; 21(17): 1573-1578 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1573.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i17.1573

■背景资料
氧化应激在肝纤维化中扮演着重要角色, 许多致肝损伤的因素不同程度伴随氧化水平的升高或者抗氧化能力的下降, 氧化应激与肝纤维化病理机制之间的关系受到越来越多的重视.

■同行评议者
高润平, 教授, 吉林大学第一医院肝胆胰内科; 吴俊华, 副教授, 南京大学医学院

■研发前沿
对肝纤维化治疗，尚缺乏理想的药物. 虽然中药及其合剂在临床上发挥了重要作用，但是其治疗机制仍需大量研究来证实. 从抗氧化治疗角度有可能发现高效抗肝纤维化作用的新药.

0 引言

多种因素可引起肝脏发生慢性炎性病变，进而发生肝纤维化，随着病情演变最终进展至肝硬化. 肝纤维化发生发展的细胞学基础是肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)的活化[1,2]. 而细胞因子的刺激、氧化应激水平、肝内微环境的改变是激活HSC的主要因素. 活化后的HSC发生形态和功能上的变化，转化为成纤维细胞或肌成纤维细胞样细胞(myofibroblasts, MFB)，表达大量的α-平滑肌肌动蛋白(α-smooth muscle actin, α-SMA). 同时HSC增殖、分化能力增强，大量分泌胶原，导致细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的降解与沉积失衡，肝内汇管区和肝小叶内以Ⅰ、Ⅲ型胶原纤维为主的纤维组织增生、沉积，引起肝纤维化的发生和发展[3,4]. 近年研究表明，氧化应激在肝纤维化发生发展过程中扮演着重要角色，许多致肝损伤的因素不同程度伴随氧化水平的升高或者抗氧化能力的下降，氧化应激与肝纤维化病理机制之间的关系受到越来越多的重视[5,6].

1 氧化应激概述

氧化应激是指机体或细胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)过度产生，内源性抗氧化防御功能减弱，致使两者之间不平衡，引起组织或细胞损伤的状态[7]. ROS主要是在线粒体及微粒体的氧化还原反应电子传递过程中，丢失电子而产生的含氧功能基团的化合物，包括氧自由基、脂质过氧化物及其歧化产物等. 此外，还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)氧化酶、NO合酶、环氧合酶等所催化的反应过程中均伴有ROS的产生[8]. 在病理情况下，ROS产生多于清除，从而导致氧化应激损伤，引起生物膜磷脂中的不饱和脂肪酸发生脂质过氧化、蛋白变性、DNA氧化损伤等[6]. 另外ROS能够活化转录因子，如核因子-κB，同时还可以作为信号转导元件，促进信号蛋白磷酸化，导致如转化生长因子β(transforming growth factor-β, TGF-β)等细胞因子的大量表达[9]. 氧化应激参与了多种疾病的病理机制. 在肝纤维化中，氧化应激参与了HSC的活化，胶原的产生等多方面，在疾病演变中发挥重要作用.

2 氧化应激在不同病因肝纤维化中的作用

ROS促进肝纤维化发生[7,10]. 首先是肝组织内ROS产生增多，引起肝细胞、Kupffer细胞、中性粒细胞等细胞的氧化损伤. 另外，ROS可改变肝细胞膜和亚细胞器的结构从而使肝细胞产生炎症反应，产生大量的炎症介质及细胞因子，促使Kupffer细胞激活. 随后Kupffer细胞分泌如血小板衍化生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)、TGF-β及炎症介质[6]. 在纤维化形成早期，这些促肝纤维化因子以HSC为靶细胞，在旁分泌作用下，作用于HSC，而HSC也可以合成上述细胞因子作用于自身，维持和增强其致纤维化作用. 同时，这些细胞因子作用于肝细胞，则会进一步加重肝脏损伤[11]. 肝细胞内产生的ROS、超氧阴离子等又可以直接刺激HSC活化和增殖[12]. 所以肝内的氧化应激水平和HSC活化状态之间的关系，可以反映在HSC的表型以及功能状态方面[13]. 另外在致纤维化因素刺激下，氧化应激水平升高引起HSC、肝细胞和肝窦内皮细胞分泌一种肝脏蛋白多糖纤维调节素. 纤维调节素可以促进HSC的增殖，迁移以及侵袭能力，促进细胞致纤维化的活性. 同时纤维调节素的大量产生，则能增加Ⅰ型胶原的沉积，导致肝纤维化病情发展[14]. 然而在不同原因引起的肝纤维化中，氧化应激发挥的作用亦有差别.

2.1 病毒性肝炎 对于丙型肝炎患者来讲，在丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)引起肝脏慢性炎症的过程中，氧化应激水平的上调将会降低体内DNA糖基化酶的能力，这样一来，使得受损DNA修复被削弱，可能引起肝硬化及肝癌的发生，目前采用干扰素的治疗，则可能会干预HCV感染后导致体内氧化应激失衡的局面，降低肝内的氧化应激水平[15]. 此外，HCV能够诱导ROS的产生，而上调的ROS能够激活包括细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)在内的多种信号蛋白的磷酸化，从而导致TGF-β1的表达和肝纤维化的形成[9].

2.2 非酒精性脂肪肝病 在该病的病理过程中，来自线粒体、过氧化物酶体、内质网等部位的氧化应激起到了非常重要的作用. 大量脂酸的氧化及脂质过氧化物的形成，导致肝细胞的损伤和HSC的激活，肝内胶原的沉积[16,17]. 目前研究发现随着肝纤维化的发展，甾醇调控元件结合蛋白1c表达降低和肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor, TNF-α)水平上调与肝内沉积脂肪消失有密切关系，这将最终引起非酒精性脂肪肝导致的纤维化晚期肝内脂肪代谢的变化[18].

2.3 酒精性肝病 酒精能够刺激HSC转化为MFB. 酒精在体内代谢过程中, 参与代谢的细胞色素P450 2E1产生ROS, 然后通过氧化应激下调ECM蛋白水解酶的活性[6], 其次酒精还可促进肠道铁的吸收和沉积, 从而导致患者体内铁过载, 过量的铁则能诱导的氧化应激成为酒精致纤维化的另一重要机制[19].

2.4 中毒性肝病 研究发现, 一些毒物比如砷可引起肝纤维化, 长期砷暴露与肝纤维化的发生有关, 每天暴露于砷的小鼠模型体内基质金属蛋白酶抑制剂-1(tissue inhibitor of metalloproteinase-1, TIMP-1)和前Ⅰ型胶原表达增强, 肝细胞内Bax蛋白显著表达和Bcl-2下调, 细胞凋亡数量增加, 而这些现象的发生与氧化应激密切相关, 证实砷是通过上调肝内氧化应激水平而促使肝纤维化的发生[20].

3 氧化应激在肝硬化并发症发生中的作用

随着肝纤维化发展至肝硬化阶段, 氧化应激在肝硬化的不同时期以及并发症的发生中起着重要作用. 不同进展阶段的肝硬化患者血中, 因氧化应激产生的蛋白氧化产物: 晚期氧化蛋白和糖化终产物的浓度可能不同, 失代偿肝硬化患者体内比代偿期具有更高的晚期氧化蛋白浓度, 血浆总抗氧化状态亦明显下降. 因此晚期氧化蛋白产物水平和肝硬化病情呈正相关, 该指标在失代偿期肝硬化患者体内的浓度水平, 可能影响肝硬化病情的进展[21]. 除此之外, 患者凝血功能障碍是肝硬化重要病理变化之一, 其中血小板功能的异常引起的凝血障碍越来越受到重视. 由于肝硬化患者异前列素产生增加[22], 异前列素引起体内的氧化应激水平上调, 最终可引起血小板的活化[23], 该过程可能与肝硬化凝血障碍有关. 另外在肝硬化患者肝性脑病的发生过程中, 脑氨中毒的发病与氧化应激也具有密切的联系. 但是, 目前还不清楚大脑中氧化应激水平升高是否是肝性脑病特征表现. 最近研究报道, 发生肝硬化的患者与脑内的氧化应激反应有关, 并提示氧化应激状态可能在肝性脑病发病机制中起到重要作用, 抑制氧化应激可能会降低肝性脑病的发生[24]. 肝硬化患者心肌收缩能力的减低也与氧化应激诱导的β肾上腺素能受体信号转导的改变有关[25], 目前临床利用输注白蛋白的方法除了减少腹水的形成等常规治疗目的外, 研究报道输注的白蛋白还可以通过抑制氧化应激诱导的β肾上腺素能受体信号的转导, 改善心脏的收缩功能[26]. 这使得该疗法对于失代偿肝硬化的治疗可能具有新的意义.

4 肝纤维化抗氧化治疗策略

由于氧化应激是肝纤维化发病的主要机制之一. 肝硬化患者体内氧化应激水平上调和抗氧化防御能力下降的研究证据越来越多, 所以旨在减轻氧化应激以及提高抗氧化防御能力的抗氧化治疗策略, 可能使肝硬化患者受益[27]. 目前在临床上的一些常用药物, 比如用于保护肝细胞的水飞蓟宾, 已经发现在体外具有较强的抗氧化功能, 抑制炎症因子和ECM的形成, 具有抗纤维化的潜质[28]. 双环醇也被证实能够通过恢复体内谷胱甘肽(glutathione, GSH)来减缓肝纤维化发展[29]. 除此之外, 现在针对抗氧化治疗肝纤维化的其他药物研究也已经被报道.

4.1 植物提取物 对于一些植物药材提取成分的抗肝纤维化作用, 近几年也得到重视. 比如多酚类抗氧化剂丹酚酸. 在硫代乙酰胺(thioacetamide, TAA)导致的肝纤维化大鼠模型中, 注射4 wk的丹酚酸, 发现丹酚酸能够通过对NADPH氧化酶的抑制作用, 下调PDGF诱导HSC产生的ROS水平, 提示丹酚酸通过减轻氧化应激而达到阻止大鼠肝纤维化的发展[30]. 川芎嗪具有较强清除氧自由基的能力, 有报道称川芎嗪降低H_2O_2参与的ERK和p38信号通路, 降低HSC活化, 维持ECM的动态平衡[31]. 另外, GSH作为广泛存在于细胞当中的多肽, 在生理过程中发挥着重要的抗氧化作用, 某些药物可以通过对他的调节发挥治疗作用, 例如姜黄素通过诱导谷氨酸半胱氨酸连接酶基因表达, 中断胰岛素信号, 降低胰岛素诱导HSC内的氧化应激, 促进GSH的从头合成; 同时可抑制Ⅰ型胶原基因表达以及其他有关HSC激活的关键基因的活化[32]. 另外该药还可以通过抑制瘦素受体, 阻断瘦素信号转导, 进而减弱瘦素诱导的氧化应激, 消除瘦素刺激调节HSC活化密切相关的基因表达, 阻断瘦素对HSC活化的刺激作用, 从而产生抗肝纤维化作用[33]. 在胆管结扎模型的肝纤维化中, 一种葡萄籽提取物通过降低丙二醛、髓过氧化物酶和胶原蛋白的含量, 升高GSH, 抑制脂质过氧化作用和恢复组织中的氧化和抗氧化平衡, 进而缓解肝纤维化的病情进展[34]. 由于TGF-β是HSC活化过程中的关键细胞因子, 因而某些植物的提取物通过影响其表达和活性而表现出一定的抗纤维化作用. 天然的黄酮类化合物槲皮素, 是一种

■相关报道
肝硬化患者肝性脑病的发生与脑内的氧化应激反应有关, 抑制氧化应激可能会降低肝性脑病的发生. 有证据证明氧化应激也参与肝硬化患者心肌功能的减退.

■创新盘点
本文阐述了氧化应激在不同病因导致的肝纤维化的作用机制, 同时也对国内外关于抗氧化治疗药物进行介绍, 提出了抗氧化治疗在肝纤维化或者肝硬化中的作用.

有效的抗氧化剂, 能够调节超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和过氧化氢酶的功能, 显著降低TGF-β的表达, 同时下调Ⅰ型胶原蛋白、结缔组织生长因子, 诱导基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)2和9的生成, 最终通过减少肝内氧化, 阻止肝纤维化的发展[35]. 除此之外, 绿茶中的儿茶素可降低胆汁淤积模型大鼠肝内氧化应激的产物8-羟基脱氧鸟苷、4-羟基壬烯醛, 同时降低TGF-β1和α-SMA水平, 来阻止HSC的激活[36].

4.2 化学合成药物 目前报道一些化学合成药物, 在动物模型中能够降低体内氧化应激的水平, 达到抗肝纤维化的效果. 如新型的人工合成药物吡非尼酮, 利用其在体内抗氧化性能, 下调肝纤维化动物体内的SOD, 过氧化氢酶和诱生型一氧化氮合酶的活性, 降低转氨酶和胆红素水平的同时, 减少了TGF-β和Ⅰ型胶原的表达和增加肝细胞生长因子和c-met的产生, 在体内能够发挥较强的阻止肝纤维化进展的效果[37]. 另外钙拮抗剂阿折地平, 已被证明在内皮细胞和心肌细胞中具有抗氧化特性, 保护细胞氧化损伤. 而最近有报道称阿折地平在四氯化碳和TAA诱导的肝硬化小鼠体内, 可能是由于该药提高抗氧化防御水平, 从而减缓肝纤维化的进展[38]. 对于临床上常用的β受体阻滞剂如卡维地洛, 目前除了能够舒张血管, 还发现其具有强大的抗氧化性能, 通过改善氧化应激能够降低脂质过氧化, 恢复耗竭的GSH和降低的抗氧化酶活性, 抑制HSC激活, 还能显著降低肝纤维化指标, 包括羟脯氨酸、胶原蛋白的积累和α-SMA的表达, 最终达到一定的抗肝纤维化作用[39]. 某些咪唑盐衍生物能够在TAA所致肝纤维化小鼠体内减少氧化损伤及炎症反应, 改善肝功能, 降低胶原蛋白的沉积和α-SMA的表达, 达到治疗肝纤维化的目的[40]. 腺苷A受体在HSC的激活中具有重要作用, 三嗪类化合物的衍生物非选择性抑制乙醇诱导的HSC激活, 同时降低α-SMA和胶原蛋白的合成, 下调HSC内增高的氧化应激水平从而发挥阻止肝纤维化进展的作用[41]. 除此之外, 化合物GKT137831能够抑制HSC中产生的ROS的关键酶NADPH氧化酶, 进一步能够减少ROS的产生和纤维化相关基因的表达[42].

4.3 其他 氧化应激在继发性胆汁性肝硬化中也发挥着重要作用, 而抗氧化剂维生素E和C在胆汁淤积的大鼠模型中能够延缓肝纤维化[43], 推测这可能与降低大鼠体内氧化应激水平有关. 维生素C具有较强的还原性, 参与体内的氧化还原反应, 保护巯基酶不被氧化, 同时对肝细胞的具有保护作用. 在酒精性肝纤维化中, 维生素C可能是由于降低氧化应激, 下调HSC活化, 以及TGF-β和α(Ⅰ)型胶原的表达, 达到减轻肝纤维化的作用[44]. 另外, 维生素E可以通过抑制NADPH氧化酶的组装, 降低ROS的产生, 干扰ROS依赖的信号转导, 从而阻止肝纤维化的慢性炎症进程[45], 同时在HSC中又能直接降低花生四烯酸导致的ROS产生, 发挥其抗纤维化作用[46]. α-硫辛酸和其还原形式的二氢酸可以抑制毒物引起的炎症和ROS的产生. 在肝纤维化动物模型中, α-硫辛酸抑制TAA诱导的肝硬化发展, 降低转氨酶活性. 其还原形式的二氢酸抑制TGF-β和PDGF激活HSC和降低ROS的生成[47]. 在瘦素诱导的肝内氧化应激水平增高的情况下, 抗氧化剂二亚油酸甘油酯磷脂酰胆碱和S-腺苷甲硫氨酸联合应用, 可以抑制过氧化物的产生, 干扰H_2O_2介导的信号通路, 从而阻断了瘦素诱导的TIMP-1和胶原的产生, 发挥抗纤维化作用[48,49].

5 结论

目前, 肝纤维化发病机制的研究取得了较大的进展, 但还仍有许多未知的领域值得进一步探讨和研究. 同时对肝纤维化治疗, 尚缺乏较为理想的药物. 虽然中药及其合剂在临床上发挥了重要作用, 但是其治疗机制还仍需大量基础和临床研究来证实. 由于氧化应激是肝纤维化发生发展的重要病理机制, 因此从抗氧化治疗角度有可能发现高效有抗肝纤维化作用的新药. 关于抗氧化剂疗效的大样本临床研究如今已经在维生素E治疗非酒精性脂肪肝中获得较大的进展[50], 这也为临床抗氧化治疗肝纤维化带来更大的信心和希望. 相信未来几年, 氧化应激在肝纤维化中的作用研究会取得更大进步, 通过抗氧化对肝纤维化治疗可能会成为现实.

6 参考文献

1 Friedman SL. Hepatic stellate cells: protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver. *Physiol Rev* 2008; 88: 125-172 [PMID: 18195085 DOI: 10.1152/physrev.00013.2007]
2 Kisseleva T, Brenner DA. Role of hepatic stellate cells in fibrogenesis and the reversal of fibrosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22 Suppl 1: S73-S78 [PMID: 17567473 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2006.04658.x]
3 Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology* 2008; 134: 1655-1669 [PMID: 18471545 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.03.003]
4 Ghiassi-Nejad Z, Friedman SL. Advances in antifi-

brotic therapy. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2008; 2: 803-816 [PMID: 19090740 DOI: 10.1586/17474124.2.6.803]
5 Mormone E, George J, Nieto N. Molecular pathogenesis of hepatic fibrosis and current therapeutic approaches. *Chem Biol Interact* 2011; 193: 225-231 [PMID: 21803030 DOI: 10.1016/j.cbi.2011.07.001]
6 Urtasun R, Conde de la Rosa L, Nieto N. Oxidative and nitrosative stress and fibrogenic response. *Clin Liver Dis* 2008; 12: 769-790, viii [PMID: 18984466 DOI: 10.1016/j.cld.2008.07.005]
7 Sánchez-Valle V, Chávez-Tapia NC, Uribe M, Méndez-Sánchez N. Role of oxidative stress and molecular changes in liver fibrosis: a review. *Curr Med Chem* 2012; 19: 4850-4860 [PMID: 22709007 DOI: 10.2174/092986712803341520]
8 Leung TM, Fung ML, Liong EC, Lau TY, Nanji AA, Tipoe GL. Role of nitric oxide in the regulation of fibrogenic factors in experimental liver fibrosis in mice. *Histol Histopathol* 2011; 26: 201-211 [PMID: 21154234]
9 Lin W, Tsai WL, Shao RX, Wu G, Peng LF, Barlow LL, Chung WJ, Zhang L, Zhao H, Jang JY, Chung RT. Hepatitis C virus regulates transforming growth factor beta1 production through the generation of reactive oxygen species in a nuclear factor kappaB-dependent manner. *Gastroenterology* 2010; 138: 2509-2518, 2518. e1 [PMID: 20230822 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.03.008]
10 Friedman SL. Evolving challenges in hepatic fibrosis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 7: 425-436 [PMID: 20585339 DOI: 10.1038/nrgastro.2010.97]
11 De Minicis S, Bataller R, Brenner DA. NADPH oxidase in the liver: defensive, offensive, or fibrogenic? *Gastroenterology* 2006; 131: 272-275 [PMID: 16831609 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.05.048]
12 Nieto N, Friedman SL, Cederbaum AI. Stimulation and proliferation of primary rat hepatic stellate cells by cytochrome P450 2E1-derived reactive oxygen species. *Hepatology* 2002; 35: 62-73 [PMID: 11786960 DOI: 10.1053/jhep.2002.30362]
13 Guimarães EL, Franceschi MF, Grivicich I, Dal-Pizzol F, Moreira JC, Guaragna RM, Borojevic R, Margis R, Guma FC. Relationship between oxidative stress levels and activation state on a hepatic stellate cell line. *Liver Int* 2006; 26: 477-485 [PMID: 16629652 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2006.01245.x]
14 Mormone E, Lu Y, Ge X, Fiel MI, Nieto N. Fibromodulin, an oxidative stress-sensitive proteoglycan, regulates the fibrogenic response to liver injury in mice. *Gastroenterology* 2012; 142: 612-621. e5 [PMID: 22138190 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.11.029]
15 Pal S, Polyak SJ, Bano N, Qiu WC, Carithers RL, Shuhart M, Gretch DR, Das A. Hepatitis C virus induces oxidative stress, DNA damage and modulates the DNA repair enzyme NEIL1. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 627-634 [PMID: 20074151 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2009.06128.x]
16 Koek GH, Liedorp PR, Bast A. The role of oxidative stress in non-alcoholic steatohepatitis. *Clin Chim Acta* 2011; 412: 1297-1305 [PMID: 21514287 DOI: 10.1016/j.cca.2011.04.013]
17 Fujii H, Kawada N. Inflammation and fibrogenesis in steatohepatitis. *J Gastroenterol* 2012; 47: 215-225 [PMID: 22310735 DOI: 10.1007/s00535-012-0527-x]
18 Nagaya T, Tanaka N, Suzuki T, Sano K, Horiuchi A, Komatsu M, Nakajima T, Nishizawa T, Joshita S, Umemura T, Ichijo T, Matsumoto A, Yoshizawa K, Nakayama J, Tanaka E, Aoyama T. Down-regulation of SREBP-1c is associated with the development of burned-out NASH. *J Hepatol* 2010; 53: 724-731 [PMID: 20655124 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.04.033]
19 Gao B, Bataller R. Alcoholic liver disease: pathogenesis and new therapeutic targets. *Gastroenterology* 2011; 141: 1572-1585 [PMID: 21920463 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.09.002]
20 Ghatak S, Biswas A, Dhali GK, Chowdhury A, Boyer JL, Santra A. Oxidative stress and hepatic stellate cell activation are key events in arsenic induced liver fibrosis in mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 2011; 251: 59-69 [PMID: 21134390 DOI: 10.1016/j.taap.2010.11.016]
21 Zuwała-Jagiełło J, Pazgan-Simon M, Simon K, Warwas M. Elevated advanced oxidation protein products levels in patients with liver cirrhosis. *Acta Biochim Pol* 2009; 56: 679-685 [PMID: 19997655]
22 Comporti M, Arezzini B, Signorini C, Vecchio D, Gardi C. Oxidative stress, isoprostanes and hepatic fibrosis. *Histol Histopathol* 2009; 24: 893-900 [PMID: 19475535]
23 Basili S, Raparelli V, Riggio O, Merli M, Carnevale R, Angelico F, Tellan G, Pignatelli P, Violi F. NADPH oxidase-mediated platelet isoprostane over-production in cirrhotic patients: implication for platelet activation. *Liver Int* 2011; 31: 1533-1540 [PMID: 22093328 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2011.02617.x]
24 Görg B, Qvartskhava N, Bidmon HJ, Palomero-Gallagher N, Kircheis G, Zilles K, Häussinger D. Oxidative stress markers in the brain of patients with cirrhosis and hepatic encephalopathy. *Hepatology* 2010; 52: 256-265 [PMID: 20583283 DOI: 10.1002/hep.23656]
25 Møller S, Dümcke CW, Krag A. The heart and the liver. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2009; 3: 51-64 [PMID: 19210113 DOI: 10.1586/17474124.3.1.51]
26 Bortoluzzi A, Ceolotto G, Gola E, Sticca A, Bova S, Morando F, Piano S, Fasolato S, Rosi S, Gatta A, Angeli P. Positive cardiac inotropic effect of albumin infusion in rodents with cirrhosis and ascites: molecular mechanisms. *Hepatology* 2013; 57: 266-276 [PMID: 22911662 DOI: 10.1002/hep.26021]
27 Ergün Y, Kurutaş EB, Ozdil B, Güneşaçar R, Ergün Y. Evaluation of nitrite/nitrate levels in relation to oxidative stress parameters in liver cirrhosis. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2011; 35: 303-308 [PMID: 21316327 DOI: 10.1016/j.clinre.2010.12.009]
28 Trappoliere M, Caligiuri A, Schmid M, Bertolani C, Failli P, Vizzutti F, Novo E, di Manzano C, Marra F, Loguercio C, Pinzani M. Silybin, a component of sylimarin, exerts anti-inflammatory and anti-fibrogenic effects on human hepatic stellate cells. *J Hepatol* 2009; 50: 1102-1111 [PMID: 19398228 DOI: 10.1016/j.jhep.2009.02.023]
29 Li Y, Li Y, Liu GT. [Protective effects of bicyclol on liver fibrosis induced by carbon tetrachloride]. *Zhonghua Yixue Zazhi* 2004; 84: 2096-2101 [PMID: 15730626]
30 Tsai MK, Lin YL, Huang YT. Effects of salvianolic acids on oxidative stress and hepatic fibrosis in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 2010; 242: 155-164 [PMID: 19822164 DOI: 10.1016/j.taap.2009.10.002]
31 Zhang F, Ni C, Kong D, Zhang X, Zhu X, Chen L, Lu Y, Zheng S. Ligustrazine attenuates oxidative

■应用要点
针对调节氧化应激水平, 可能会阻止肝纤维化的进展, 因此一些抗氧化药物将会为肝纤维化或肝硬化患者提供更优化的治疗方案.

■同行评价
本文选题学术价值比较高, 文章的观点参考较新的国内外研究报道, 科学性较强, 对于基础和临床都有一定意义.

stress-induced activation of hepatic stellate cells by interrupting platelet-derived growth factor-β receptor-mediated ERK and p38 pathways. *Toxicol Appl Pharmacol* 2012; 265: 51-60 [PMID: 23022513 DOI: 10.1016/j.taap.2012.09.016]
32 Elinav E, Ali M, Bruck R, Brazowski E, Phillips A, Shapira Y, Katz M, Solomon G, Halpern Z, Gertler A. Competitive inhibition of leptin signaling results in amelioration of liver fibrosis through modulation of stellate cell function. *Hepatology* 2009; 49: 278-286 [PMID: 19065677 DOI: 10.1002/hep.22584]
33 Tang Y, Zheng S, Chen A. Curcumin eliminates leptin's effects on hepatic stellate cell activation via interrupting leptin signaling. *Endocrinology* 2009; 150: 3011-3020 [PMID: 19299451 DOI: 10.1210/en.2008-1601]
34 Dulundu E, Ozel Y, Topaloglu U, Toklu H, Ercan F, Gedik N, Sener G. Grape seed extract reduces oxidative stress and fibrosis in experimental biliary obstruction. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 885-892 [PMID: 17565645 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2007.04875.x]
35 Hernández-Ortega LD, Alcántar-Díaz BE, Ruiz-Corro LA, Sandoval-Rodriguez A, Bueno-Topete M, Armendariz-Borunda J, Salazar-Montes AM. Quercetin improves hepatic fibrosis reducing hepatic stellate cells and regulating pro-fibrogenic/anti-fibrogenic molecules balance. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27: 1865-1872 [PMID: 22989100 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2012.07262.x]
36 Kobayashi H, Tanaka Y, Asagiri K, Asakawa T, Tanikawa K, Kage M, Yagi M. The antioxidant effect of green tea catechin ameliorates experimental liver injury. *Phytomedicine* 2010; 17: 197-202 [PMID: 20092986 DOI: 10.1016/j.phymed.2009.12.006]
37 Salazar-Montes A, Ruiz-Corro L, López-Reyes A, Castrejón-Gómez E, Armendáriz-Borunda J. Potent antioxidant role of pirfenidone in experimental cirrhosis. *Eur J Pharmacol* 2008; 595: 69-77 [PMID: 18652820 DOI: 10.1016/j.ejphar.2008.06.110]
38 Ohyama T, Sato K, Kishimoto K, Yamazaki Y, Horiguchi N, Ichikawa T, Kakizaki S, Takagi H, Izumi T, Mori M. Azelnidipine is a calcium blocker that attenuates liver fibrosis and may increase antioxidant defence. *Br J Pharmacol* 2012; 165: 1173-1187 [PMID: 21790536 DOI: 10.1111/j.1476-5381.2011.01599.x]
39 Hamdy N, El-Demerdash E. New therapeutic aspect for carvedilol: antifibrotic effects of carvedilol in chronic carbon tetrachloride-induced liver damage. *Toxicol Appl Pharmacol* 2012; 261: 292-299 [PMID: 22543095 DOI: 10.1016/j.taap.2012.04.012]
40 Mohamed Suhaimi NA, Zhuo L. Imidazolium salt attenuates thioacetamide-induced liver fibrosis in mice by modulating inflammation and oxidative stress. *Dig Liver Dis* 2012; 44: 665-673 [PMID: 22483594 DOI: 10.1016/j.dld.2012.02.015]
41 Szuster-Ciesielska A, Sztanke K, Kandefer-Szerszeń M. A novel fused 1,2,4-triazine aryl derivative as antioxidant and nonselective antagonist of adenosine A(2A) receptors in ethanol-activated liver stellate cells. *Chem Biol Interact* 2012; 195: 18-24 [PMID: 22063920 DOI: 10.1016/j.cbi.2011.10.004]
42 Aoyama T, Paik YH, Watanabe S, Laleu B, Gaggini F, Fioraso-Cartier L, Molango S, Heitz F, Merlot C, Szyndralewiez C, Page P, Brenner DA. Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase in experimental liver fibrosis: GKT137831 as a novel potential therapeutic agent. *Hepatology* 2012; 56: 2316-2327 [PMID: 22806357 DOI: 10.1002/hep.25938]
43 Soylu AR, Aydogdu N, Basaran UN, Altaner S, Tarcin O, Gedik N, Umit H, Tezel A, Dokmeci G, Baloglu H, Ture M, Kutlu K, Kaymak K. Antioxidants vitamin E and C attenuate hepatic fibrosis in biliary-obstructed rats. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 6835-6841 [PMID: 17106933]
44 Abhilash PA, Harikrishnan R, Indira M. Ascorbic acid supplementation down-regulates the alcohol induced oxidative stress, hepatic stellate cell activation, cytotoxicity and mRNA levels of selected fibrotic genes in guinea pigs. *Free Radic Res* 2012; 46: 204-213 [PMID: 22149461 DOI: 10.3109/10715762.2011.647691]
45 Zingg JM. Modulation of signal transduction by vitamin E. *Mol Aspects Med* 2007; 28: 481-506 [PMID: 17320164 DOI: 10.1016/j.mam.2006.12.009]
46 Cubero FJ, Nieto N. Ethanol and arachidonic acid synergize to activate Kupffer cells and modulate the fibrogenic response via tumor necrosis factor alpha, reduced glutathione, and transforming growth factor beta-dependent mechanisms. *Hepatology* 2008; 48: 2027-2039 [PMID: 19003881 DOI: 10.1002/hep.22592]
47 Foo NP, Lin SH, Lee YH, Wu MJ, Wang YJ. α-Lipoic acid inhibits liver fibrosis through the attenuation of ROS-triggered signaling in hepatic stellate cells activated by PDGF and TGF-β. *Toxicology* 2011; 282: 39-46 [PMID: 21251946 DOI: 10.1016/j.tox.2011.01.009]
48 Cao Q, Mak KM, Lieber CS. DLPC and SAMe combined prevent leptin-stimulated TIMP-1 production in LX-2 human hepatic stellate cells by inhibiting HO-mediated signal transduction. *Liver Int* 2006; 26: 221-231 [PMID: 16448461 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2005.01204.x]
49 Cao Q, Mak KM, Lieber CS. DLPC and SAMe prevent alpha1(I) collagen mRNA up-regulation in human hepatic stellate cells, whether caused by leptin or menadione. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 350: 50-55 [PMID: 16996477 DOI: 10.1016/j.bbrc.2006.08.174]
50 Sanyal AJ, Chalasani N, Kowdley KV, McCullough A, Diehl AM, Bass NM, Neuschwander-Tetri BA, Lavine JE, Tonascia J, Unalp A, Van Natta M, Clark J, Brunt EM, Kleiner DE, Hoofnagle JH, Robuck PR. Pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med* 2010; 362: 1675-1685 [PMID: 20427778 DOI: 10.1056/NEJMoa0907929]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2013年6月18日; 21(17): 1579-1588
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

Smo siRNA对裸鼠食管癌移植瘤细胞凋亡的影响

孙海斌, 张 虎, 丁胭脂, 张 红, 陈奎生

孙海斌, 郑州大学第五附属医院病理科 河南省郑州市 450052
张虎, 丁胭脂, 张红, 陈奎生, 郑州大学第一附属医院病理科 河南省肿瘤病理重点实验室 河南省郑州市 450052
孙海斌, 副主任医师, 主要从事肿瘤病理的相关研究.
河南省科技创新杰出人才基金资助项目, No. 114200510007
作者贡献分布: 孙海斌与张虎对此文所作贡献均等; 此课题由陈奎生与张红设计; 研究过程由张虎、丁胭脂及孙海斌操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由陈奎生提供; 数据分析由张虎完成; 本论文写作由孙海斌与陈奎生完成.
通讯作者: 陈奎生, 教授, 450052, 河南省郑州市建设东路1号, 郑州大学第一附属医院病理科. chenksh2002@yahoo.com.cn
电话: 0371-66658175
收稿日期: 2013-03-26 修回日期: 2013-04-20
接受日期: 2013-05-12 在线出版日期: 2013-06-18

SiRNA-mediated Smoothened gene silencing induces tumor cell apoptosis in a nude mouse model bearing human esophageal carcinoma

Hai-Bin Sun, Hu Zhang, Yan-Zhi Ding, Hong Zhang, Kui-Sheng Chen

Hai-Bin Sun, Department of Pathology, the Fifth Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China
Hu Zhang, Yan-Zhi Ding, Hong Zhang, Kui-Sheng Chen, Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University; Henan Key Laboratory of Tumor Pathology, Zhengzhou 450052, Henan Province, China
Supported by: the Science and Technology Innovation Talent Foundation of Henan Province, No. 114200510007
Correspondence to: Kui-Sheng Chen, Professor, Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 1 Jianshe East Road, Zhengzhou 450052, Henan Province, China. chenksh2002@yahoo.com.cn
Received: 2013-03-26 Revised: 2013-04-20
Accepted: 2013-05-12 Published online: 2013-06-18

Abstract

AIM: To investigate the inhibitory effect of small interfering RNA (siRNA)-mediated silencing of the Smoothened (Smo) gene on tumor cell apoptosis in a nude mouse model bearing human esophageal carcinoma.

METHODS: An Smo siRNA or a non-relevant siRNA was used to transfect human esophageal carcinoma EC9706 cells. Non-transfected cells were used as a blank control. The transfected cells were injected into the parascapular region of nude mice. After 4 wk, tumor tissue samples were taken to detect the expression of Smo and Gli1 proteins and mRNAs by immunohistochemistry, *in situ* hybridization, Western blot, semi quantitative RT-PCR, and to determine cell apoptosis by TUNEL assay and transmission electron microscopy.

RESULTS: Immunohistochemistry and *in situ* hybridization analyses showed that the expression levels of Smo protein (8.37 ± 1.73 *vs* 8.42 ± 1.49, 8.37 ± 1.73) and mRNA (2.32 ± 0.63 *vs* 9.61 ± 0.85, 9.82 ± 0.63) and Gli1 protein (3.53 ± 0.37 *vs* 0.89 ± 0.06, 0.91 ± 0.05) and mRNA (3.35 ± 0.87 *vs* 8.41 ± 1.64, 8.53 ± 1.38) were significantly lower in the Smo siRNA group than in the non-relevant group and blank control group (all $P < 0.05$). Western blot and RT-PCR results also revealed that the expression levels of Smo protein (0.33 ± 0.06 *vs* 9.61 ± 0.85, 0.91± 0.05) and mRNA (0.35 ± 0.07 *vs* 0.89 ± 0.06, 0.96 ± 0.07) and Gli1 protein (0.29 ± 0.05 *vs* 0.87 ± 0.08, 0.84 ± 0.06) and mRNA (0.29 ± 0.05 *vs* 0.89 ± 0.07, 0.87 ± 0.06) were significantly lower in the Smo siRNA group than in the non-relevant group and blank control group (all $P < 0.05$). TUNEL results showed that the apoptosis rate increased significantly in the Smo siRNA group compared with two control groups (both $P < 0.05$). Transmission electron microscopy analysis revealed cytoplasmic pyknosis, increased electron density, chromatin condensation and condensation, nuclear fragmentation, and presence of apoptotic bodies in the Smo siRNA group. Two control groups had no such histopathological changes. The number of apoptotic cells increased significantly in the Smo siRNA group compared to control groups.

CONCLUSION: SiRNA-mediated *Smo* gene silencing induces tumor cell apoptosis in a nude mouse model bearing human esophageal carcinoma.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Sonic Hedgehog; Smoothened; Gli1; Nude mice; Transplanted tumor

■背景资料
Hedgehog(HH)信号通路是在胚胎期起作用的信号通路之一, 该信号通路的异常激活与多种恶性肿瘤的发生发展密切相关. Smoothened(Smo)是该通路重要组成部分, 研究表明, Smo在食管癌等恶性肿瘤中高表达, 且与肿瘤的浸润转移密切相关, 可见Smo是肿瘤靶向治疗的有效靶点.

■同行评议者
李苏宜, 教授, 主任医师, 东南大学附属中大医院肿瘤科

■研发前沿
靶向阻断HH信号通路治疗肿瘤成为当前研究的热点. *Smo*基因在该通道中起着“枢纽”作用, 所以沉默Smo的表达, 抑制HH信号通路成为研究的重点. 寻求沉默Smo的有效抑制剂或分子生物学技术是当前亟待解决的问题.

Sun HB, Zhang H, Ding YZ, Zhang H, Chen KS. SiRNA-mediated Smoothened gene silencing induces tumor cell apoptosis in a nude mouse model bearing human esophageal carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(17): 1579-1588 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1579.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i17.1579

摘要

目的: 探讨小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)对人食管癌裸鼠移植瘤细胞凋亡影响.

方法: 使用Smo siRNA转染人食管癌EC9706细胞, 设无关序列组和空白对照组为对照, 将转染好的细胞注射到裸鼠肩胛旁区, 4 wk后取瘤组织. 采用免疫组织化学SP法、Western blot方法检测裸鼠移植瘤组织中Smo、Gli1蛋白的表达; 应用原位杂交、半定量RT-PCR方法检测裸鼠移植瘤组织中Smo、Gli1 mRNA的表达; 运用TUNEL法和透射电镜等方法观察裸鼠移植瘤细胞的凋亡情况.

结果: 转染siRNA后, 免疫组织化学和原位杂交结果显示, 3组组织中siRNA干扰组Smo蛋白(8.37±1.73)及mRNA(2.32±0.63)、Gli1蛋白(3.53±0.37)及mRNA(3.35±0.87)阳性表达细胞数均低于对照组(无关对照组Smo蛋白及mRNA分别为8.42±1.49、9.61±0.85, 空白对照组Smo蛋白及mRNA 8.37±1.73、9.82±0.63; 无关对照组Gli1蛋白及mRNA分别为0.89±0.06、8.41±1.64, 空白对照组Gli1蛋白及mRNA 0.91±0.05、8.53±1.38), 且差异均具有统计学意义(P<0.05); Western blot及RT-PCR结果显示, 与对照组相比(无关对照组Smo蛋白及mRNA分别为9.61±0.85、0.89±0.06; 空白对照组Smo蛋白及mRNA为0.91±0.05、0.96±0.07; 无关对照组Gli1蛋白及mRNA分别为0.87±0.08、0.89±0.07, 空白对照组Gli1蛋白及mRNA分别为0.84±0.06、0.87±0.06; siRNA干扰组中的Smo(0.33±0.06)及mRNA(0.35±0.07)、Gli1(0.29±0.05)及mRNA(0.29±0.05)的表达量明显下调, 组间两两相比差异具有统计学意义(P<0.05); TUNEL结果显示, siRNA干扰组凋亡率(apoptosis rate, AI)明显升高, 组间两两比较AI差异具有统计学意义(P<0.05); 透射电镜检测结果显示, 实验组与对照组相比凋亡细胞数明显增多. 细胞胞质固缩、电子致密度增高, 可见凋亡早期细胞, 染色质固缩并凝结成形态不同的块状, 凋亡晚期细胞可见, 细胞核裂解为碎块状, 产生凋亡小体. 两对照组超微结构无明显差异, 细胞膜完整, 线粒体等细胞器正常, 细胞核基本正常.

结论: Smo siRNA可通过下调裸鼠食管癌细胞中*Smo*基因的表达, 进而体内诱导裸鼠食管癌移植瘤细胞的凋亡.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: Sonic Hedgehog; Smoothened; **核转录因子; 裸鼠移植**

核心提示: Hedgehog(HH)信号通路与食管癌密切相关, 设计合成的Smo siRNA可以沉默*Smo*基因, 抑制HH信号通路, 促进食管癌细胞的凋亡, 为分子靶向阻断HH信号通路治疗食管癌奠定了基础.

孙海斌, 张虎, 丁胭脂, 张红, 陈奎生. Smo siRNA对裸鼠食管癌移植瘤细胞凋亡的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(17): 1579-1588 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1579.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i17.1579

0 引言

恶性肿瘤细胞与胚胎前体细胞有许多共同的特征, 许多胚胎期起作用的信号通路在肿瘤的形成和转移过程中起重要作用[1]. Hedgehog(HH)信号通路就是其中之一, 该信号通路的异常激活与多种肿瘤, 如基底细胞癌[2,3]、髓母细胞瘤[4]、横纹肌肉瘤[5]、小细胞肺癌[6]、胰腺癌[7]、结肠癌[8]、食管癌[9]等的发病有关. HH信号通路主要包括4个部分: Hedgehog配体(Hh)、Patched受体(Ptc)、Smoothened(Smo)蛋白、核转录因子(Gli)及下游目的基因构成[10-12]. 该通路异常与多种恶性肿瘤的发生发展及肿瘤细胞的凋亡密切相关[13]. 本研究设计、合成特异性Smo小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA), 转染食管癌EC9706细胞后构建裸鼠移植瘤, 以探讨*Smo*基因靶向性siRNA对裸鼠食管癌移植瘤细胞凋亡的影响.

1 材料和方法

1.1 材料 人食管癌EC9706细胞株由中国医学科学院肿瘤研究所分子肿瘤学国家重点实验室惠赠; Balb/c裸鼠购自上海斯莱克实验动物有限公司. RPMI 1640、Lipofectamine™ 2000和TRIzol购自美国Invitrogen公司; Smo siRNA购自上海吉玛制药技术有限公司; SP9000免疫组织化学试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司; Smo、Gli1 cDNA探针购自上海生工生物技术

有限责任公司; cDNA反转录试剂盒、PCR扩增试剂盒购自北京天根生化科技有限公司; 蛋白提取试剂盒购自宝生物工程(大连)有限公司; 人Smo、Gli1和β-actin引物购自上海生工生物技术有限责任公司; BCA蛋白定量试剂盒购自北京康为世纪生物科技有限公司; 兔抗人Smo、Gli多克隆抗体购自美国SAB公司; 兔抗人β-actin多克隆抗体购自北京博奥森生物技术有限公司; TUNEL试剂盒购自瑞士Roche公司.

1.2 方法

1.2.1 细胞转染及裸鼠移植瘤的构建: 人食管癌EC9706细胞于含青霉素100 U/mL、链霉素100 U/mL和10%胎牛血清的RPMI 1640培养基中, 在37 ℃、5%CO_2的培养箱中贴壁培养. 取对数生长期细胞镜下计数后以2×10^5/mL接种到六孔板, 待细胞密度达到85%-90%融合时严格按照Lipofectamine™ 2000操作说明分别转染3条Smo siRNA, 设24、48和72 h 3个转染时间段, 每个时间段均设150、200和250 ng/μL 3个转染剂量, 将特异性siRNA-1、siRAN-2及siRAN-3分别转染EC9706细胞, 筛选最佳siRNA、最佳浓度、最佳作用时间(预实验结果显示250 ng/μL的siRNA-1处理72 h抑制效应最强, 后续实验采用250 ng/μL的siRNA-1处理EC9706细胞72 h), 同时设立无关序列组和空白对照组.

1.2.2 裸鼠食管癌移植瘤的构建: 将裸鼠随机分为3组, 分别为siRNA干扰组、无关序列组和空白对照组, 每组5只, 为区别动物, 采用剪耳缘法对其进行标记, 在相同的条件下对3组动物进行分笼饲养. 为保证动物健康, 木屑、标准食物及饮用水均采用高压灭菌、隔天更换. 待体外转染完成后, 将裸鼠背部肩胛旁区皮下选为注射部位, 对其进行接种, 注射剂量为1×10^7/mL, 0.2 mL/只.

1.2.3 免疫组织化学: (1)免疫组织化学步骤: 免疫组织化学染色步骤严格按照说明书进行, DAB底物工作液显色, 苏木素复染. 以PBS代替一抗作阴性对照; (2)结果判定以阳性细胞百分比结合染色强度统计积分. 细胞质染成棕黄色或棕褐色为阳性, 随机观察10个高倍视野, 每个视野记数200个细胞, 计算阳性细胞数.

1.2.4 原位杂交: (1)原位杂交步骤: 原位杂交步骤严格按照说明书进行, BCIP/NBT染色, 核固红复染. 采用0.1 mg/mL RNase, 37 ℃预处理组织切片60 min及用无探针的杂交液孵育组织切片作阴性对照; (2)结果判定[14]: 以阳性细胞百分比结合染色强度统计积分. 细胞质染成紫蓝色为阳性, 随机观察10个高倍视野, 每个视野记数200个细胞, 计算阳性细胞数.

1.2.5 RT-PCR: 取新鲜肿瘤组织, 按TRIzol操作说明, 提取各组总RNA. 逆转录反应合成cDNA第一链后以β-actin为内参照进行PCR反应, Smo扩增产物为306 bp, 上游引物为: 5'-CGCTACCCTGCTGTTATTCTCT-3', 下游引物为: 5'-CAG-GTGGAAGTAGGAGGTCTTG-3'; Gli1扩增产物为201 bp, 上游引物为: 5'-TTG-GAGAAGCCGAGCCGAGTATC-3', 下游引物为: 5'-GAGTAGACAGAGGTTGGGAGGTA-AGG-3'; β-actin扩增产物为480 bp, 上游引物为: 5'-CATCCTGCGTCTGGACCT-3', 下游引物为: 5'-TCAGGAGGAGCAATGATCTTG-3'(引物序列设计合成均由上海生工完成). 所有操作严格按照RT-PCR试剂盒说明书进行, PCR反应条件: (Smo)94 ℃预变性5 min, 94 ℃变性30 s, 59 ℃退火45 s, 72 ℃延伸60 s, 35个循环; 最后72 ℃延伸5 min至4 ℃; (Gli1)94 ℃预变性5 min, 94 ℃变性30 s, 58 ℃退火45 s, 72 ℃延伸60 s, 35个循环, 最后72 ℃延伸5 min至4 ℃. 取10 μL产物1%琼脂糖凝胶电泳, 用Alpha View软件进行图像分析, 以Smo mRNA与β-actin电泳条带积分光密度值之比表示Smo mRNA的相对表达量.

1.2.6 Western blot: 取新鲜组织适量剪碎, 加入预冷的裂解液匀浆, 加入抽提试剂, 低温离心30 min, 上清即总蛋白. 用BCA法测定蛋白质浓度后, 取50 μg蛋白上样, 通过12%分离胶后转至PVDF膜上, 脱脂奶粉封闭; 加入兔抗人Smo抗体(1∶500), 4 ℃过夜; 用TBS洗膜10 min×3次, 加入羊抗兔二抗, 室温微摇2 h, TBS 洗膜10 min×3次; 曝光后照相, 用Alpha View软件进行图像分析, 以目的条带与β-actin积分光密度值之比表示目的蛋白的相对表达量.

统计学处理 应用SPSS17.0统计软件进行统计学处理, 计量资料采用mean±SD表示; 两组均数的比较用*t*检验; 多组均数的比较用方差分析; 方差不齐时先进行变量转换. 显著性水准$\alpha = 0.05$.

2 结果

2.1 免疫组织化学

2.1.1 免疫组织化学检测各组移植瘤组织内Smo蛋白的表达: 免疫组织化学结果显示, Smo蛋白阳性表达信号主要定位于细胞质中, 呈浅

■相关报道

Li等剔除小鼠的*Shh*基因, 发现Shh配体在食管发生及演变过程中起着重要作用; 特别是Ma等研究发现食管癌组织中Shh和Ptch受体均高表达. 国内孙波等的研究结果表明Smo与食管癌的发生及浸润转移密切相关.

■创新盘点
本研究利用RNA干扰技术沉默*Smo*基因, 体外研究*Smo*基因与食管癌的关系, 并用电镜观察肿瘤细胞凋亡情况.

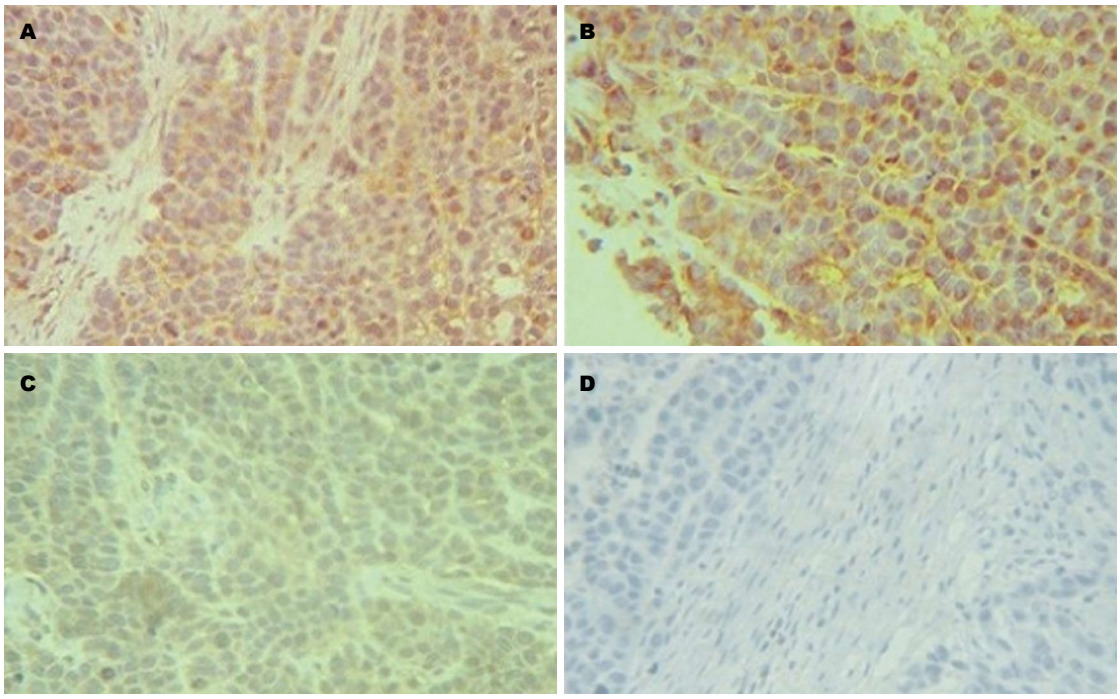


图 1 免疫组织化学检测各组移植瘤中Smo蛋白的表达(×200). A: 空白对照组; B: 无关序列组; C: siRNA干扰组; D: 阴性对照组.

表 1 各组移植瘤中Smo蛋白表达 (n = 5, mean ± SD)

分组	Smo蛋白表达	F值	P值
siRNA干扰组	2.63 ± 0.57		
无关序列组	8.42 ± 1.49	715.28	0.000
空白对照组	8.37 ± 1.73		

表 2 各组移植瘤中Gli1蛋白表达 (n = 5, mean ± SD)

分组	Gli1蛋白表达	F值	P值
siRNA干扰组	2.32 ± 0.63		
无关序列组	7.37 ± 1.57	713.52	0.000
空白对照组	7.29 ± 1.49		

黄色或棕黄色颗粒. SiRNA干扰组、空白对照组、无关序列组Smo蛋白表达分别为: 2.63±0.57、8.42±1.49和8.37±1.73, 实验组与对照组两两比较Smo蛋白的表达差异有统计学意义(P<0.05), 无关序列组与空白对照组比较差异无统计学意义(P>0.05)(表1, 图1).

2.1.2 免疫组织化学检测各组移植瘤组织中Gli1蛋白的表达: 免疫组织化学结果显示, Gli1蛋白阳性表达信号主要定位于细胞核中, 胞质次之, 呈浅黄色或棕黄色颗粒. SiRNA干扰组与对照组两两比较, Gli1蛋白的表达差异有统计学意义(P<0.05), 无关序列组与空白对照组比较差异无统计学意义(P>0.05)(表2, 图2).

2.2 Western blot检测各组移植瘤组织中蛋白表达情况

2.2.1 Western blot检测移植瘤组织中Smo蛋白的表达: 实验组与对照组相比, Smo蛋白表达量明显下降差异有统计学意义(P<0.05), 两对照组Smo蛋白表达量差异无统计学意义(P>0.05)(表3, 图3).

2.2.2 Western blot检测移植瘤组织中Gli1蛋白的表达: 实验组与对照组相比Gli1蛋白表达量明显下降, 差异有统计学意义(P<0.05), 两对照组Gli1蛋白表达量差异无统计学意义(P>0.05)(表4, 图4).

2.3 原位杂交检测各组移植瘤组织中mRNA表达情况

2.3.1 原位杂交检测移植瘤组织中Smo mRNA的表达: Smo mRNA阳性表达信号主要定位于细胞质中, 呈紫蓝色颗粒. siRNA干扰组、空白对照组、无关序列组Smo mRNA表达分别为: 3.53±0.37、9.61±0.85和9.82±0.63. 实验组与对照组两两比较Smo mRNA表达差异有统计学意义(P<0.05), 无关序列组与空白对照组比较差异无统计学意义(P>0.05)(表5, 图5).

2.3.2 原位杂交检测移植瘤组织中Gli1 mRNA的表达: Gli1 mRNA阳性表达信号主要定位于细胞质中, 呈紫蓝色颗粒. 实验组与对照组两两比较Smo mRNA表达差异有统计学意义(P<0.05), 无关序列组与空白对照组比较差异无统计学意义

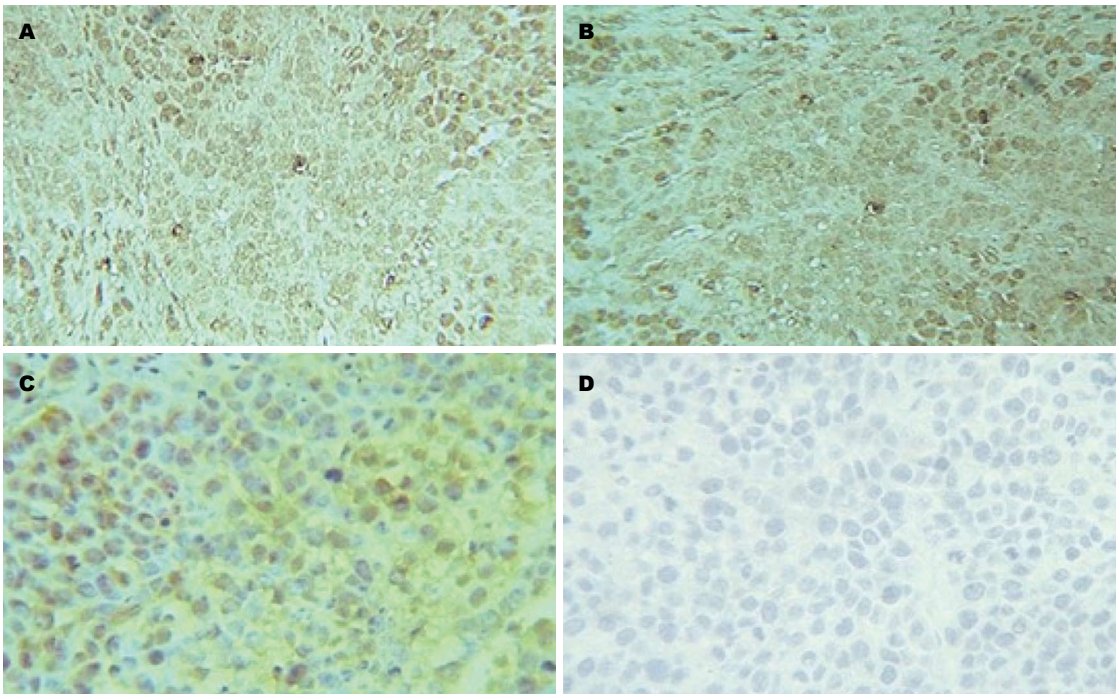


图 2 免疫组织化学检测各组移植瘤中Gli1蛋白的表达(×200). A: 空白对照组; B: 无关序列组; C: siRNA干扰组; D: 阴性对照.

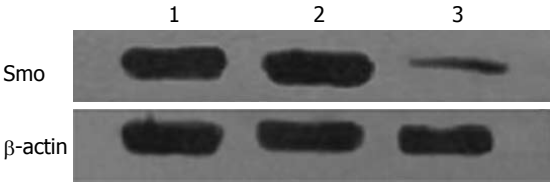


图 3 Western blot检测各组移植瘤组织中Smo蛋白的表达. 1: 空白对照组; 2: 无关序列组; 3: siRNA干扰组.

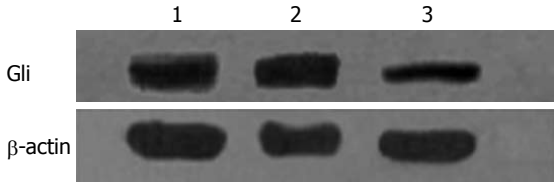


图 4 Western blot检测各组移植瘤组织中Gli1蛋白的表达. 1: 空白对照组; 2: 无关序列组; 3: siRNA干扰组.

表 3 不同组别Smo蛋白表达结果 (n = 5, mean ± SD)

分组	Smo蛋白表达	F值	P值
siRNA干扰组	0.33 ± 0.06		
无关序列组	0.89 ± 0.06[a]	145.63	0.000
空白对照组	0.91 ± 0.05[a]		

[a]P<0.05 *vs* siRNA干扰组.

表 4 不同组别Gli1蛋白表达结果 (n = 5, mean ± SD)

分组	Gli1蛋白表达	F值	P值
siRNA干扰组	0.29 ± 0.05		
无关序列组	0.87 ± 0.08[a]	152.45	0.000
空白对照组	0.84 ± 0.06[a]		

[a]P<0.05 *vs* siRNA干扰组.

(P>0.05)(表6, 图6).

2.4 RT-PCR检测各组移植瘤组织中mRNA表达情况

2.4.1 RT-PCR检测移植瘤组织中Smo mRNA的表达: Smo和β-actin扩增产物经电泳后, 结果显示扩增片段大小与设计的大小完全一致, 分别为306和480 bp. 与空白对照组及无关序列组相比, siRNA干扰组中的Smo mRNA表达量明显下降差异有统计学意义(P<0.05), 两对照组中Smo mRNA差异无统计学意义(P>0.05)(表7, 图7).

2.4.2 RT-PCR检测移植瘤组织中Gli1 mRNA的表达: Gli1和β-actin扩增产物经电泳后, 结果显示扩增片段大小与设计的大小完全一致, 分别为201和480 bp. 与空白对照组及无关序列组相比, siRNA干扰组中的Gli mRNA表达量明显下降, 差异有统计学意义(P<0.05), 两对照组Gli1 mRNA表达差异无统计学意义(P>0.05)(表8, 图8).

2.5 TUNEL检测各组移植瘤组织中细胞凋亡情

■应用要点

RNA干扰技术具有高效、高特异性及廉价等特点, 其应用前景广阔. 利用RNA干扰技术沉默*Smo*基因, 抑制HH信号通路治疗食管癌是可行的.

■同行评价
本文从多角度多层次体外探讨HH信号通路中*Smo*、*Gli1*基因的异常表达对食管癌裸鼠模型荷载肿瘤病灶凋亡的影响, 具有一定的创新性, 设计严谨, 逻辑性强.

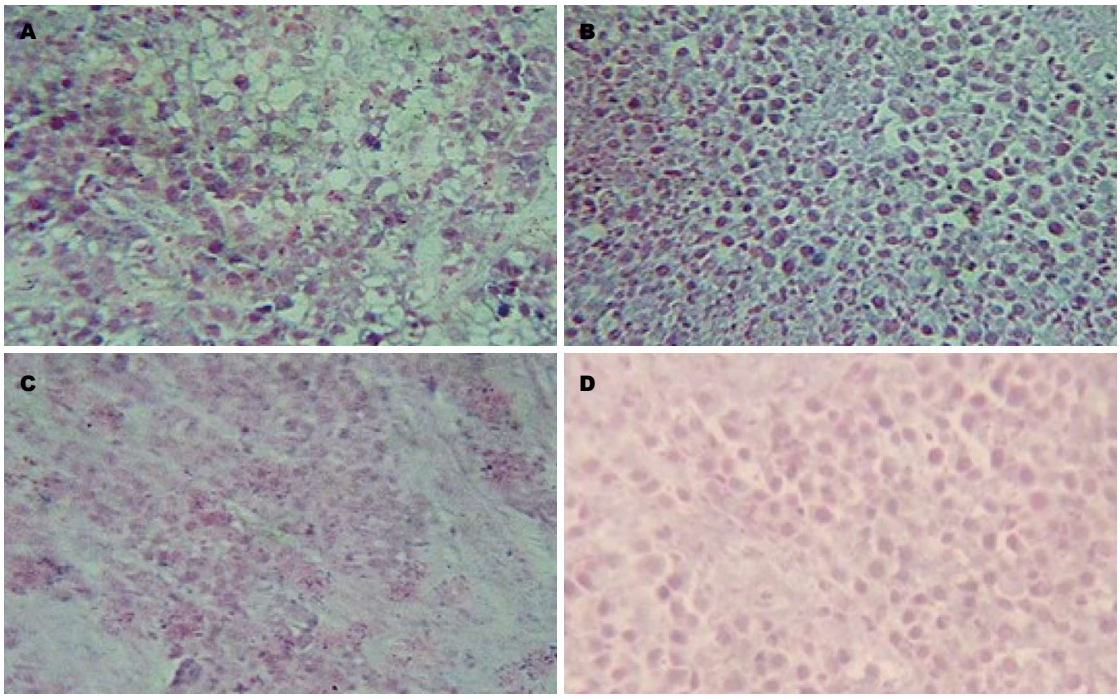


图 5 原位杂交检测各组移植瘤中Smo mRNA表达. A: 空白对照组; B: 无关序列组; C: siRNA干扰组; D: 阴性对照组.

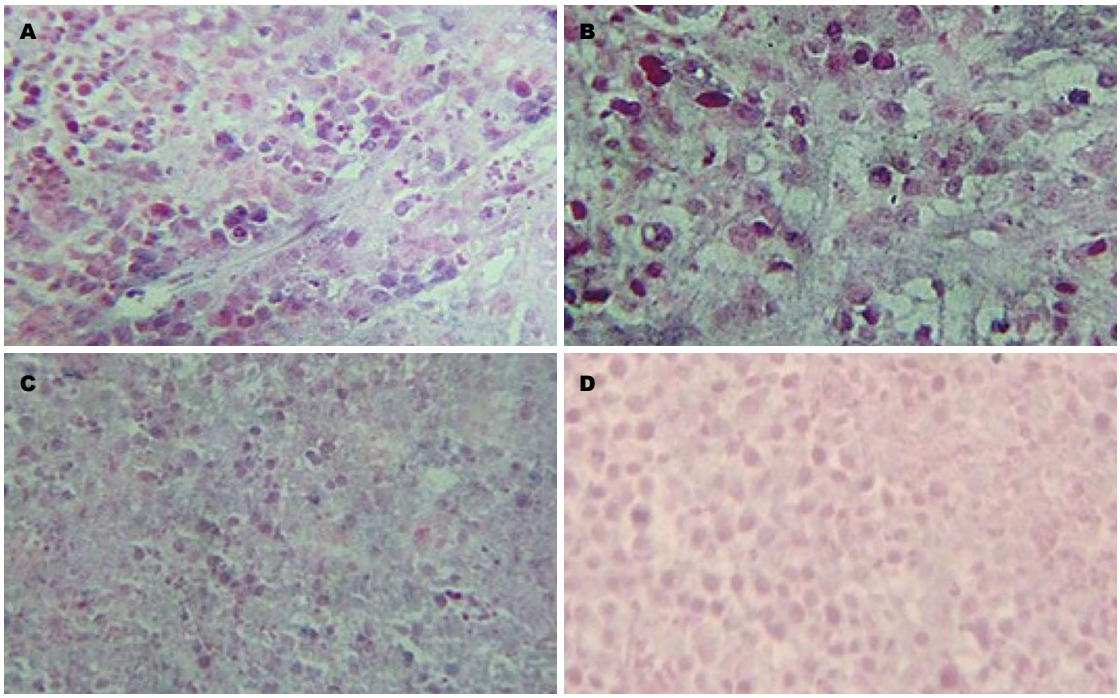


图 6 原位杂交检测各组移植瘤中Gli1 mRNA的表达. A: 空白对照组; B: 无关序列组; C: siRNA干扰组; D: 阴性对照组.

况 实验组与对照组相比凋亡细胞数增多, 实验组与各对照组AI差异有统计学意义(均$P<0.05$); 空白对照组与无关序列组AI差异无统计学意义(均$P>0.05$)(表9, 图9).

2.6 透射电镜观察移植瘤细胞凋亡的情况 透射电镜下实验组凋亡细胞数明显增加. 凋亡细胞微绒毛减少、胞质固缩、细胞体积变小、胞质电子致密度增高, 可见凋亡早期细胞, 其表现为染色质固缩并凝结成形态不同的块状, 聚集于核内不同部位; 内质网疏松化并与胞膜融合形成一个个空泡; 凋亡晚期细胞可见, 细胞核裂解为碎块状, 产生数量不等体积不同的凋亡小体. 图10A

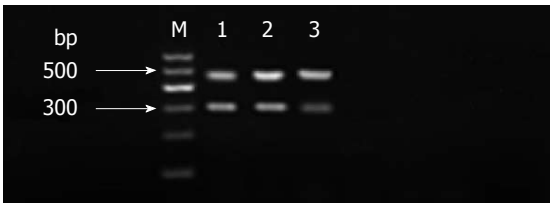


图 7 RT-PCR检测各组移植瘤组织中Smo mRNA的表达. M: marker; 1: 空白对照组; 2: 无关序列组; 3: siRNA干扰组.

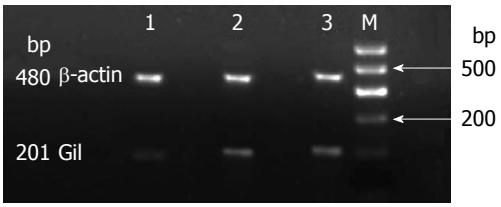


图 8 RT-PCR检测各组移植瘤组织中Gli1 mRNA的表达. M: marker; 1: 空白对照组; 2: 无关序列组; 3: siRNA干扰组.

可见大量空泡及凋亡小体形成; 图10B可见细胞表面的微绒毛结构明显减少并可见到线粒体; 图10C典型的凋亡小体形成; 图10D未发生凋亡的移植瘤细胞, 细胞表面有大量微绒毛结构.

3 讨论

HH信号通路在哺乳动物胚胎发育、分化及肿瘤形成中发挥着重要的作用[15,16]. 至今为止在哺乳动物中至少发现3种Hh同源基因配体: Sonic Hedgehog(SHH)、Indian Hedgehog(IHH)和Desert Hedgehog(DHH), 分别编码3种相应的蛋白: SHH、IHH和DHHI[17,18]. Hedgehog信号通路中的主要成员有Hh配体、Ptch受体、Smo蛋白和Gli转录因子. 此通路的转导顺序是, Hh配体结合跨膜受体Patched(Ptch)后, 释放Ptch介导抑制的Smo受体[19,20]. Smo阻遏解除使GLI锌指转录因子激活并转入核内, 促进Hh靶基因的转录[21,22]. 恶性肿瘤中Hh信号通路的异常激活有两种方式: 基因突变(非配体依赖性)或配体高表达(配体依赖性)[23,24]. 非配体依赖性主要是指Ptch受体功能缺失性突变和Smo蛋白功能获得性突变; 配体依赖性是指Hh配体的过表达. 在Hedgehog信号通路中作为信号转换蛋白的Smo是一种原癌基因[25,26], 在整个信号转导通路中起到“枢纽”的作用, 当其发生功能获得性突变(非配体依赖性激活)或Hedgehog解除了Ptch对其的抑制作用(配体依赖性激活)时, 会引起此信号通路的激活[18]. 因此本课题选用*Smo*作为靶基因, 采用siRNA技术对裸鼠食管癌移植瘤细胞凋亡进行研究.

表 5 各组移植瘤组织中Smo mRNA表达 (n = 5, mean ± SD)

分组	Smo mRNA表达	F值	P值
siRNA干扰组	3.53 ± 0.37		
无关序列组	9.61 ± 0.85	736.20	0.000
空白对照组	9.82 ± 0.63		

表 6 各组裸鼠食管癌移植瘤组织Gli1 mRNA的表达 (n = 200, mean ± SD)

分组	Gli1 mRNA表达	F值	P值
siRNA干扰组	3.35 ± 0.87		
无关序列组	8.41 ± 1.64[a]	753.60	0.000
空白对照组	8.53 ± 1.38[a]		

[a]P<0.05 *vs* siRNA干扰组.

表 7 各组裸鼠食管癌移植瘤组织Smo mRNA的表达 (n = 5, mean ± SD)

分组	Smo mRNA表达	F值	P值
siRNA干扰组	0.35 ± 0.07		
无关序列组	0.98 ± 0.06[a]	138.93	0.000
空白对照组	0.96 ± 0.07[a]		

[a]P<0.05 *vs* siRNA干扰组.

表 8 各组裸鼠食管癌移植瘤组织Gli1 mRNA的表达 (n = 5, mean ± SD)

分组	Gli1 mRNA表达	F值	P值
siRNA干扰组	0.29 ± 0.05		
无关序列组	0.89 ± 0.07[a]	142.82	0.000
空白对照组	0.87 ± 0.06[a]		

[a]P<0.05 *vs* siRNA干扰组.

表 9 TUNEL法检测Smo siRNA对各组裸鼠食管癌移植瘤细胞凋亡的影响 (n = 3, mean ± SD)

分组	凋亡指数(%)
siRNA干扰组	18.93 ± 1.52
无关序列组	3.73 ± 0.41[ac]
空白对照组	3.58 ± 0.37[a]

[a]P<0.05 *vs* siRNA干扰组; [c]P>0.05 *vs* 空白对照组.

Ma等[27]报道在22例食管癌病例中有24例存在Shh和Ptch受体的高表达. Litingtung等[28]通过

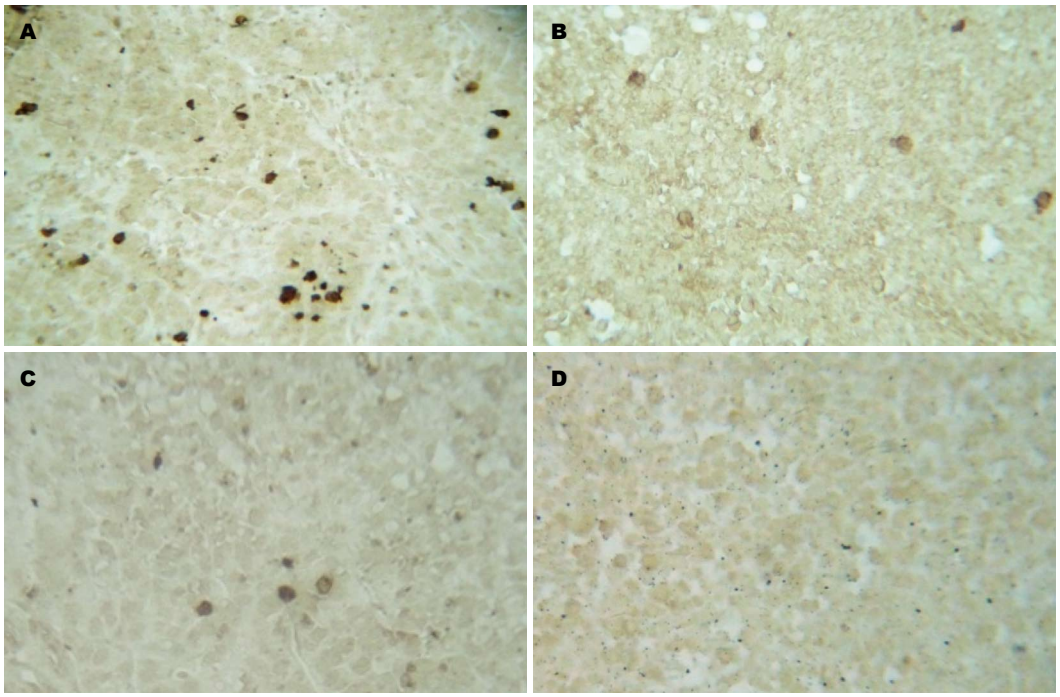


图 9 各组裸鼠食管癌移植瘤组织中TUNEL检测结果(×400). A: siRNA干扰组; B: 无关序列组; C: 空白对照组; D: 阴性对照组.

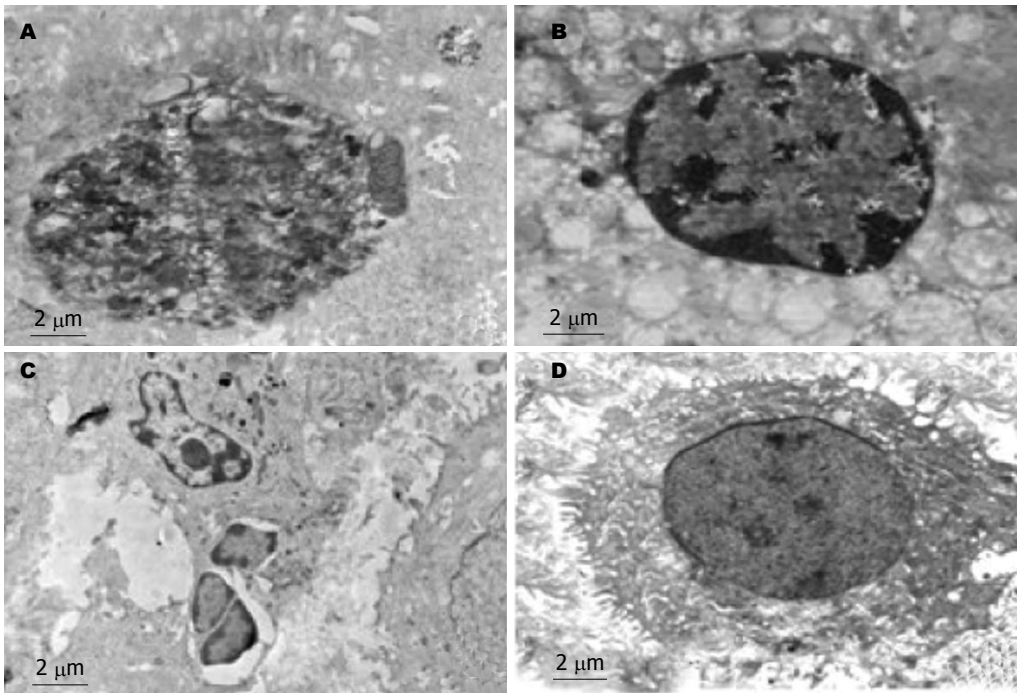


图 10 透射电镜观察各组移植瘤细胞凋亡的情况. A: siRNA干扰组(TEM×12000); B: siRNA干扰组(TEM×20000); C: siRNA干扰组(TEM×10000); D: 无关序列组(TEM×12000).

将小鼠的*Shh*基因剔除后, 发现小鼠食管闭锁、狭窄且分化差, 这些结果提示Shh配体在食管的生长分化中是不可缺少的. 本实验室近期研究结果显示[29], Smo、Gli蛋白及mRNA在食管鳞癌细胞中高表达; Smo高表达与食管鳞癌的浸润深度、淋巴结转移密切相关; Smo siRNA可抑制食管鳞癌的浸润和转移. 可见Smo与食管癌的发生发展有关. 这与孙波等[30]的研究是一致的.

本文应用Western blot、免疫组织化学、原位杂交及RT-PCR检测Smo蛋白及其mRNA, 结

果发现裸鼠食管癌移植瘤组织中Smo mRNA高表达, 该结果提示食管癌EC9706细胞的发生与*Smo*基因的高表达有关; 应用RNAi原理降解Smo mRNA的表达结果显示Smo siRNA能有效降低EC9706细胞内的Smo mRNA降解效果达到65%, 达到下调EC9706细胞*Smo*基因表达的预期. TUNEL结果显示, Smo mRNA被降解后EC9706细胞的凋亡率增加, 结果显示实验组与对照组相比凋亡率显著升高差异具有统计学意义($P<0.05$), 结果提示EC9706细胞内*Smo*基因表达的下调可诱导EC9706细胞的凋亡; *Smo*基因的高表达与EC9706细胞的凋亡异常有关; 透射电镜观察结果显示, siRNA干扰组细胞微绒毛减少、胞质固缩、细胞体积变小、胞质电子致密度增高, 可见凋亡早期细胞, 其表现为染色质固缩并凝结成形态不同的块状, 聚集于核内不同部位; 内质网疏松化并与胞膜融合形成一个个空泡; 凋亡晚期细胞可见, 细胞核裂解为碎块状, 产生数量不等体积不同的凋亡小体. 两对照组超微结构无明显差异, 细胞膜完整, 线粒体等细胞器正常, 细胞核正常, 与实验组相比, 实验组凋亡率明显增高. 结果提示, 下调*Smo*基因的表达可诱导EC9706细胞的凋亡.

4 参考文献

1 Bailey JM, Singh PK, Hollingsworth MA. Cancer metastasis facilitated by developmental pathways: Sonic hedgehog, Notch, and bone morphogenic proteins. *J Cell Biochem* 2007; 102: 829-839 [PMID: 17914743 DOI: 10.1002/jcb.21509]

2 Sekulic A, Mangold AR, Northfelt DW, LoRusso PM. Advanced basal cell carcinoma of the skin: targeting the hedgehog pathway. *Curr Opin Oncol* 2013; 25: 218-223 [PMID: 23493193]

3 Lupi O. Correlations between the Sonic Hedgehog pathway and basal cell carcinoma. *Int J Dermatol* 2007; 46: 1113-1117 [PMID: 17988327 DOI: 10.1111/j.1365-4632.2007.03391.x]

4 Archer TC, Weeraratne SD, Pomeroy SL. Hedgehog-GLI pathway in medulloblastoma. *J Clin Oncol* 2012; 30: 2154-2156 [PMID: 22508821 DOI: 10.1200/JCO.2011.41.1181]

5 Li F, Shi W, Capurro M, Filmus J. Glypican-5 stimulates rhabdomyosarcoma cell proliferation by activating Hedgehog signaling. *J Cell Biol* 2011; 192: 691-704 [PMID: 21339334 DOI: 10.1083/jcb.201008087]

6 Park KS, Martelotto LG, Peifer M, Sos ML, Karnezis AN, Mahjoub MR, Bernard K, Conklin JF, Szczepny A, Yuan J, Guo R, Ospina B, Falzon J, Bennett S, Brown TJ, Markovic A, Devereux WL, Ocasio CA, Chen JK, Stearns T, Thomas RK, Dorsch M, Buonamici S, Watkins DN, Peacock CD, Sage J. A crucial requirement for Hedgehog signaling in small cell lung cancer. *Nat Med* 2011; 17: 1504-1508 [PMID: 21983857 DOI: 10.1038/nm.2473]

7 Hao K, Tian XD, Qin CF, Xie XH, Yang YM. Hedgehog signaling pathway regulates human pancreatic cancer cell proliferation and metastasis. *Oncol Rep* 2013; 29: 1124-1132 [PMID: 23292285]

8 刘聪, 喻志华, 李媛, 周晟. SHH信号途径相关蛋白在结肠肿瘤组织中过度表达与STAT3活化的关系. 世界华人消化杂志 2010; 18: 3089-3095

9 Mori Y, Okumura T, Tsunoda S, Sakai Y, Shimada Y. Gli-1 expression is associated with lymph node metastasis and tumor progression in esophageal squamous cell carcinoma. *Oncology* 2006; 70: 378-389 [PMID: 17179732 DOI: 10.1159/000098111]

10 Milla LA, González-Ramírez CN, Palma V. Sonic Hedgehog in cancer stem cells: a novel link with autophagy. *Biol Res* 2012; 45: 223-230 [PMID: 23283432 DOI: 10.4067/S0716-97602012000300004]

11 Robbins DJ, Fei DL, Riobo NA. The Hedgehog signal transduction network. *Sci Signal* 2012; 5: re6 [PMID: 23074268 DOI: 10.1126/scisignal.2002906]

12 Kubota K, Yamauchi N, Matsumoto K, Watanabe R, Oozono S, Aramaki S, Wood C, Soh T, Hattori MA. Expression of hedgehog family genes in the rat uterus during early pregnancy. *J Reprod Dev* 2008; 54: 340-345 [PMID: 18612197 DOI: 10.1262/jrd.20054]

13 Park MY, Park YS, Nam JH. RNA interference against granulin-epithelin precursor prevents hepatocellular carcinoma growth: its application as a therapeutic agent. *Int J Oncol* 2011; 39: 853-861 [PMID: 21701774]

14 张威, 陈玉, 亚国伟, 陈奎生. RNA干扰对EC9706细胞mTOR表达及细胞生长与凋亡的影响. 郑州大学学报(医学版) 2010; 45: 11-15

15 Medina V, Calvo MB, Díaz-Prado S, Espada J. Hedgehog signalling as a target in cancer stem cells. *Clin Transl Oncol* 2009; 11: 199-207 [PMID: 19380296 DOI: 10.1007/s12094-009-0341-y]

16 Jiang J, Hui CC. Hedgehog signaling in development and cancer. *Dev Cell* 2008; 15: 801-812 [PMID: 19081070 DOI: 10.1016/j.devcel.2008.11.010]

17 Zarogoulidis P, Zarampouka K, Huang H, Darwiche K, Huang Y, Sakkas A, Zarogoulidis K. Hedgehog signaling pathway: the must, the maybe and the unknown. *J Thorac Dis* 2013; 5: 195-197 [PMID: 23585948]

18 Choy SW, Cheng SH. Hedgehog signaling. *Vitam Horm* 2012; 88: 1-23 [PMID: 22391297 DOI: 10.1016/B978-0-12-394622-5.00001-8]

19 Coni S, Infante P, Gulino A. Control of stem cells and cancer stem cells by Hedgehog signaling: pharmacologic clues from pathway dissection. *Biochem Pharmacol* 2013; 85: 623-628 [PMID: 23148911 DOI: 10.1016/j.bcp.2012.11.001]

20 Katayama S, Ashizawa K, Gohma H, Fukuhara T, Narumi K, Tsuzuki Y, Tatemoto H, Nakada T, Nagai K. The expression of Hedgehog genes (Ihh, Dhh) and Hedgehog target genes (Ptc1, Gli1, Coup-TfII) is affected by estrogenic stimuli in the uterus of immature female rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 2006; 217: 375-383 [PMID: 17109907 DOI: 10.1016/j.taap.2006.10.003]

21 Hynes M, Stone DM, Dowd M, Pitts-Meek S, Goddard A, Gurney A, Rosenthal A. Control of cell pattern in the neural tube by the zinc finger transcription factor and oncogene Gli-1. *Neuron* 1997; 19: 15-26 [PMID: 9247260 DOI: 10.1016/S0896-6273(00)80344-X]

22 Li SH, Fu J, Watkins DN, Srivastava RK, Shankar S. Sulforaphane regulates self-renewal of pancreatic cancer stem cells through the modulation of Sonic hedgehog-GLI pathway. *Mol Cell Biochem* 2013; 373: 217-227 [PMID: 23129257 DOI: 10.1007/s11010-012-1493-6]
23 Szkandera J, Kiesslich T, Haybaeck J, Gerger A, Pichler M. Hedgehog signaling pathway in ovarian cancer. *Int J Mol Sci* 2013; 14: 1179-1196 [PMID: 23303278 DOI: 10.3390/ijms14011179]
24 Che L, Yuan YH, Jia J, Ren J. Activation of sonic hedgehog signaling pathway is an independent potential prognosis predictor in human hepatocellular carcinoma patients. *Chin J Cancer Res* 2012; 24: 323-331 [PMID: 23359030 DOI: 10.1007/s11670-012-0271-z]
25 Ruiz i Altaba A, Sánchez P, Dahmane N. Gli and hedgehog in cancer: tumours, embryos and stem cells. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 361-372 [PMID: 12044012 DOI: 10.1038/nrc796]
26 Kim PG, Albacker CE, Lu YF, Jang IH, Lim Y, Heffner GC, Arora N, Bowman TV, Lin MI, Lensch MW, De Los Angeles A, Zon LI, Loewer S, Daley GQ. Signaling axis involving Hedgehog, Notch, and Scl promotes the embryonic endothelial-to-hematopoietic transition. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013; 110: E141-E150 [PMID: 23236128 DOI: 10.1073/pnas.1214361110]
27 Ma X, Sheng T, Zhang Y, Zhang X, He J, Huang S, Chen K, Sultz J, Adegboyega PA, Zhang H, Xie J. Hedgehog signaling is activated in subsets of esophageal cancers. *Int J Cancer* 2006; 118: 139-148 [PMID: 16003737 DOI: 10.1002/ijc.21295]
28 Litingtung Y, Lei L, Westphal H, Chiang C. Sonic hedgehog is essential to foregut development. *Nat Genet* 1998; 20: 58-61 [PMID: 9731532 DOI: 10.1038/1717]
29 李俊平, 陈奎生. Smo蛋白及mRAN在食管鳞状细胞癌组织中的表达及意义. 肿瘤基础与临床 2011; 24: 1-3
30 孙波, 张蕾, 李颖霞, 符仲标, 邵惠杰, 温洪涛. Smo和Gli1蛋白在食管鳞状细胞癌组织中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2011; 19: 483-487

编辑 田滢 电编 鲁亚静

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

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775

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

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

世界华人消化杂志 2013年6月18日; 21(17): 1589-1594
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

CD4、CD8和IL-2在海洛因戒断、复吸大鼠胃窦的表达

夏白娟, 梁文妹, 李一欣, 洪 艳, 韩 晶, 胡 赟

夏白娟, 梁文妹, 李一欣, 洪艳, 韩晶, 胡赟, 贵阳医学院组织学与胚胎学教研室 贵州省贵阳市 550004
夏白娟, 副教授, 主要从事胃肠内分泌和免疫方面的研究.
贵州省卫生厅优秀青年基金资助项目, No. G2009-11
贵州省科技厅基金资助项目, No. E2010-3
作者贡献分布: 夏白娟、梁文妹、李一欣、洪艳、韩晶及胡赟共同完成动物模型地制作; 实验设计、标本收集、染色、数据采集、统计分析及文章起草由夏白娟完成.
通讯作者: 夏白娟, 副教授, 550004, 贵州省贵阳市北京路9号, 贵阳医学院组织学与胚胎学教研室. xiabaijuan@sina.com
电话: 0851-6908567
收稿日期: 2012-12-21 修回日期: 2013-03-07
接受日期: 2013-05-09 在线出版日期: 2013-06-18

Expression of CD4, CD8 and IL-2 in the gastric antrum of rats during heroin abstinence and relapse

Bai-Juan Xia, Wen-Mei Liang, Yi-Xin Li, Yan Hong, Jing Han, Yun Hu

Bai-Juan Xia, Wen-Mei Liang, Yi-Xin Li, Yan Hong, Jing Han, Yun Hu, Department of Histology and Embryology, Guiyang Medical University, Guiyang 550004, Guizhou Province, China
Supported by: the Excellent Youth Foundation of Guizhou Province Health Department of Guizhou Province, No.G2009-11; the Foundation of Department of Science and Technology of Guizhou Province, No.E2010-3
Correspondence to: Bai-Juan Xia, Associate Professor, Department of Histology and Embryology, Guiyang Medical University, 9 Beijing Road, Guiyang 550004, Guizhou Province, China. xiabaijuan@sina.com
Received: 2012-12-21 Revised: 2013-03-07
Accepted: 2013-05-09 Published online: 2013-06-18

Abstract

AIM: To detect the expression of CD4, CD8 and interleukin-2 (IL-2) in the gastric antrum of rats during heroin abstinence and relapse.

METHODS: Thirty-five male adult SD rats were randomly divided into three groups: normal control group (NCG), saline control group (SCG) and experiment group (EG). The experiment group was divided into three subgroups: heroin abstinence subgroup (HAS), methadone detoxication subgroup (MDS) and heroin relapse subgroup (HRS). Immunohistochemistry was performed to detect the expression of CD4, CD8 and IL-2 in the gastric antrum of rats of different groups.

RESULTS: Compared to the NCG, the staining intensity of CD4 and IL-2 (CD4: 135.314 ± 3.595 *vs* 154.889 ± 3.238, 155.455 ± 3.176; IL-2: 131.082 ± 4.769 *vs* 150.233 ± 4.241, 150.199 ± 4.007; all $P < 0.05$) and the numbers of CD4- and IL-2-positive cells (CD4: 15.944 ± 1.661 *vs* 8.500 ± 1.150, 10.278 ± 1.074; IL-2: 21.824 ± 2.556 *vs* 13.118 ± 3.180, 8.529 ± 1.179; all $P < 0.05$) in the gastric antrum decreased, and the staining intensity of CD8 (138.239 ± 4.047 *vs* 123.717 ± 4.622, 125.498 ± 3.056, both $P < 0.05$) and the number of CD8-positive cells (18.611 ± 2.477 *vs* 26.167 ± 2.203, 26.778 ± 1.592, both $P < 0.05$) significantly increased in the HAS and HRS. Compared to the NCG and SCG, there were no obvious changes in the staining intensity of CD4, CD8 and IL-2 and the numbers of CD4-, CD8- and IL-2-positive cells in the MDS (all $P > 0.05$).

CONCLUSION: The expression of CD4 and IL-2 decreases and that of CD8 increases in the gastric antrum of rats during heroin abstinence and relapse, which suggests that the antrum is damaged during heroin abstinence and relapse. In the MDG, the expression of CD4, CD8 and IL-2 in the MDS is close to that in the NCG and SCG, suggesting that the structure and function of the antrum could be restored after detoxication with methadone.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Heroin; Abstinence; Relapse; CD4; CD8; Interleukin-2; Antrum

Xia BJ, Liang WM, Li YX, Hong Y, Han J, Hu Y. Expression of CD4, CD8 and IL-2 in the gastric antrum of rats during heroin abstinence and relapse. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(17): 1589-1594 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1589.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i17.1589

摘要

目的: 探讨海洛因戒断、复吸对大鼠胃窦内CD4、CD8和白介素2(interleukin-2, IL-2)表达的影响.

■**背景资料**
目前, 外源性阿片类物质的滥用日益严重, 长期摄入毒品形成躯体和精神依赖的患者, 体质虚弱, 免疫功能低下, 各种传染性疾病的易感性较高. 胃肠道作为机体免疫系统的一个重要组成部分, 也受到严重影响. 由于胃肠免疫功能下降所带来的许多胃肠疾病如胃肠道炎症、溃疡、出血等患病率明显增加. 目前对阿片成瘾的胃肠免疫学的研究大多为血清学方面, 但尚未见到海洛因戒断、复吸期间相关T细胞及细胞因子形态学原位研究的报道.

■**同行评议者**
李淳, 副教授, 汕头大学医学院病理学

■研发前沿
近年来由于阿片类药物滥用所引起的社会问题和健康问题已引起许多学者的关注, 作为阿片类药物典型代表的海洛因所产生的危害尤为严重. 海洛因依赖、戒断和复吸均会对消化系统免疫功能有一定的影响, 引起不同程度的胃肠功能紊乱.

方法: 正常♂SD大鼠35只, 随机分为正常对照组(normal control group, NCG)、盐水对照组(saline control group, SCG)和实验组(experiment group, EG), 将EG大鼠又分为戒断组(heroin withdrawal group, HWG)、脱毒治疗组(methadone detoxication group, MDG)和复吸组(heroin relapse group, HRG). 采用免疫组织化学SABC法及图像分析法, 观察CD4、CD8和IL-2在大鼠胃窦中表达的变化.

结果: 与正常对照组及SCG比较, HWG及HRG大鼠胃窦内的CD4、IL-2阳性细胞数量有所减少(CD4: NCG 15.944±1.661; HWG 8.500±1.150, HRG 10.278±1.074; IL-2: NCG 21.824±2.556; HWG 13.118±3.180; HRG 8.529±1.179), 染色变浅, 表达减弱, 平均灰度值升高(CD4: NCG 135.314±3.595; HWG 154.889±3.238, HRG 155.455±3.176; IL-2: NCG 131.082±4.769; HWG 150.233±4.241; HRG 150.199±4.007); CD8阳性细胞数量增多(NCG 18.611±2.477; HWG 26.167±2.203, HRG 26.778±1.592)染色变深, 表达增强, 平均灰度值下降(CD8: NCG 138.239±4.047; HWG 123.717±4.622, HRG 125.498±3.056). 差异均有统计学意义(P<0.05). MDG与NCG及SCG比较, 大鼠胃窦内的CD4、CD8和IL-2阳性细胞的免疫染色强度无明显变化, 平均灰度值差异无统计学意义(P>0.05).

结论: 在海洛因戒断、复吸期间, CD4、IL-2在胃窦表达减弱, CD8表达增强, 提示海洛因戒断、复吸对大鼠胃黏膜免疫功能造成损伤; MDG大鼠胃窦CD4、CD8和IL-2的表达与正常组差异无显著性, 提示脱毒治疗后胃窦功能逐步趋于正常.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 海洛因; 戒断; 复吸; CD4; CD8; 白介素2; 胃窦

核心提示: 海洛因的滥用能削弱机体的免疫功能, 使各个器官感染的发生率增加. 本实验通过建立海洛因戒断、复吸大鼠模型, 观察了CD4、CD8和白介素2(interleukin-2)在大鼠胃窦黏膜内的表达, 探讨胃窦黏膜免疫功能在此期间的变化, 为由海洛因引起的消化系功能紊乱的治疗提供了相应的理论依据.

夏白娟, 梁文妹, 李一欣, 洪艳, 韩晶, 胡赟. CD4、CD8和IL-2在海洛因戒断、复吸大鼠胃窦的表达. 世界华人消化杂志 2013; 21(17): 1589-1594 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1589.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i17.1589

0 引言

海洛因成瘾者戒断之后复吸率极高[1], 阿片类物质滥用不但造成一系列社会问题, 还严重危害人体健康, 可致多种疾病, 各种各样的感染是吸毒者发病和死亡的主要原因之一, 研究表明, 各类毒品都不同程度地削弱机体的免疫功能, 使各种器官脏器的机会性感染发生率增加, 应用抗生素也很难治愈, 形成多年不愈的慢性感染, 其毒性作用表现为长期应用后对整个免疫系统包括非特异性和特异性, 包括体液免疫和细胞免疫功能的全面抑制. T细胞是淋巴细胞的一种, 在机体免疫中起着重要作用. 细胞免疫是T细胞受到抗原刺激后, 分化、增殖、转化为致敏T细胞, 发挥其杀伤作用的过程. CD4、CD8是参与细胞免疫最主要的两种T淋巴细胞, 参与机体病毒免疫[2]、抗肿瘤免疫[3]等作用. CD4是辅助性T细胞的表面标志, CD8是杀伤性T细胞的表面标志. 白介素2(interleukin-2, IL-2)是由CD4产生的一种细胞因子, 能活化巨噬细胞、提高CD8的杀伤活性, 并能促进淋巴细胞的增殖. 本实验通过建立相关大鼠模型, 观察海洛因戒断、脱毒和复吸期间, CD4、CD8和IL-2在大鼠胃窦黏膜内的表达, 旨在探讨胃黏膜免疫功能在海洛因戒断和复吸期间的变化.

1 材料和方法

1.1 材料 成年♂SD大鼠35只, 体质量180-220 g, 由贵阳医学院实验动物中心提供. 海洛因粉剂, 纯度61.48%, 临用时用灭菌注射用水溶解; 美沙酮由汉方制药厂提供.

1.2 方法

1.2.1 分组: 35只大鼠按配对原则随机分为正常对照组(normal control group, NCG)5只、盐水对照组(saline control group, SCG)15只和实验组(experiment group, EG)15只, EG又分为海洛因戒断组(heroin withdrawal group, HWG)、美沙酮脱毒治疗组(methadone detoxication group, MDG)和海洛因复吸组(heroin relapse group, HRG), 每组5只; 盐水组也相应地分为3组(即SCG1、SCG2、SCG3), 每组5只.

1.2.2 建立海洛因戒断大鼠模型[4]: EG按体质量逐日注射海洛因药液, 首日剂量为3 mg/kg, 2次/d(上午8:00时, 下午15:00时), 每日递增剂量为3 mg/kg, 连续皮下注射海洛因9 d成瘾. 第10天EG取5只大鼠腹腔注射0.8 mg纳洛酮催瘾, 观察并记录戒断症状30 min, 依照Maldonado等[5]

的戒断症状评分标准评定, 判定大鼠海洛因戒断模型成功建立. 海洛因戒断大鼠1 h内处死. 美沙酮脱毒治疗[6]: 将已成瘾大鼠注射美沙酮脱毒治疗, 连续注射6 d, 每日剂量递减, 依次为5、4、3、2、1、0.5 mg/kg, 观察并记录大鼠行为表现, 脱毒治疗第7 d, 经注射纳洛酮催瘾并观察, 大鼠无明显戒断症状, 将美沙酮脱毒大鼠取5只处死. 建立海洛因复吸大鼠模型[6]: 将剩余5只美沙酮脱毒6 d后的大鼠再次注射海洛因, 注射剂量9 mg/kg首日, 1次/d(上午8:00时), 逐日递增剂量为3 mg/kg, 让大鼠再次染毒, 制作复吸模型. 复吸7 d后(剂量为27 mg/kg)将HRG大鼠处死. 盐水对照组按体质量每日注射与EG相当剂量的生理盐水, 并与同期各EG同时处死, 每次处死5只; 正常对照组不予任何处理作为对照.

1.2.3 取材和标本制备: 分别取正常对照组、盐水对照组和EG(戒断、脱毒和复吸)大鼠胃窦标本, 多聚甲醛液固定, 常规石蜡包埋, 制成4 μm厚的连续切片, 每例每个观察指标均观察切片3张以上, 切片间隔56 μm.

1.2.4 免疫组织化学SABC法: 按免疫组织化学SABC法进行免疫组织化学染色, 分别显示CD4、CD8和IL-2阳性细胞. 主要步骤为: 切片常规脱蜡至水, 室温10%甲醇-H_2O_2 10 min, 正常羊血清(1∶50)室温下封闭20 min, 分别滴加兔CD4、CD8和IL-2抗血清(1∶100, 博士德生物工程公司), 4 ℃孵育过夜; 羊抗兔IgG(1∶100)37 ℃孵育20 min, SABC复合物(1∶100)37 ℃孵育20 min, DAB-H_2O_2液显色, 苏木精复染细胞核, 中性树胶封片. 方法对照: PBS缓冲液代替特异性抗血清, 余步骤同上.

1.2.5 图像分析: 随机选取戒断、脱毒和HRG和同期盐水对照组胃窦切片, 各取3例, 正常对照组3例. 在40倍物镜下, 每例切片随机选取5个视野, 用BioMias图像分析系统检测CD4、CD8和IL-2阳性细胞的数量和平均灰度值.

统计学处理 应用SPSS11.5软件包对所得数据进行单因素方差分析mean±SD, $P<0.05$差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 行为学观察 在实验过程中, 实验动物随海洛因剂量加大出现典型的海洛因依赖症状, 表现为给药后动物呆滞、活动减少、嗜睡, 四肢及躯体肌紧张, 尾巴僵直上翘, 两眼凸出、发亮, 眼神迷离无光彩. 上述表现持续约30 min. 后开始出现兴奋状态, 兴奋主要表现为活动增多, 乱窜, 快速不停地转圈运动、舔毛、咬前爪及磕铁笼等. 兴奋持续时间约90 min. 给予纳洛酮注射之后30 min内观察戒断症状的出现: 烦躁不安、毛蓬松, 清理皮毛、湿狗样抖、站立、伸张等次数明显增多. 甚至出现上睑下垂、流涎, 拉稀便等症状. 在整个过程中, 和空白对照组和盐水组相比较, EG体重不增加甚至下降.

2.2 光镜观察结果

2.2.1 大鼠胃窦CD4阳性细胞: 光镜下, 经免疫组织化学染色之后, NCG大鼠胃窦黏膜中CD4、阳性反应产物呈棕黄色, 主要分布于黏膜内固有层中(图1A). 胞体小, 多呈圆形、椭圆形. SCG各组大鼠胃窦中CD4、阳性细胞的分布及免疫染色强度与其无明显差别; HWG和HRG大鼠胃窦黏膜内的CD4、IL-2阳性细胞数量有所减少, 免疫染色有所减弱(图1B, D); MDG中阳性细胞的数量和染色强度和NCG组相当(图1C).

2.2.2 大鼠胃窦CD8阳性细胞: NCG大鼠胃窦黏膜中CD8阳性反应产物位于细胞胞膜和胞质内, 呈棕黄色或棕黑色, 多位于胃窦黏膜固有层内. SCG各组大鼠胃窦中CD8阳性细胞的分布及免疫染色强度与其无明显差别(图1E); HWG大鼠胃窦黏膜内CD8阳性细胞数量有所增加, 免疫染色有所增强(图1F); MDG阳性细胞的分布和染色强度和NCG、SCG无明显差别(图1G), HRG大鼠CD8阳性细胞染色变深(图1H).

2.2.3 大鼠胃窦IL-2阳性细胞: 光镜下, 大鼠胃窦IL-2阳性细胞经DAB-H_2O_2液显色, 见免疫反应产物呈棕黄色或棕黑色细颗粒状, 存在于细胞胞质中. 对照切片未见免疫反应阳性细胞. 大鼠胃窦的IL-2阳性细胞多分布于固有层腺底部的结缔组织中(图1I). 与NCG比较, SCG各组中IL-2阳性细胞的分布及免疫反应染色强度均无明显变化. HWG(图1J)、HRG(图1L)胃窦IL-2阳性细胞的免疫反应物为棕黄色颗粒, 免疫染色强度减弱, 细胞数量减少.

2.3 图像分析结果

2.3.1 各组大鼠胃窦黏膜CD4、CD8和IL-2阳性细胞数量: NCG、SCG各组CD4、IL-2阳性细胞数量的差异无统计学意义($P>0.05$). MDG与NCG、SCG之间的差异也无显著性. HWG和HRG中的阳性细胞数量显著减少($P<0.05$), 两组之间差异不明显. 与NCG相比较, SCG各组的CD8阳性细胞数量无显著差异; HWG和HRG

■相关报道

在正常胃肠道组织中存在着大量的阿片样受体, 海洛因成瘾和戒断都对阿片肽系统的调节产生影响, 引起机体免疫功能的损伤, 抗感染能力下降出现腹泻等症状, 外周血检测发现总T细胞数量下降, 其中CD4显著降低.

■创新盘点

本实验结果表明，海洛因戒断、复吸大鼠胃窦黏膜中CD4、白介素2表达显著减弱，提示该阶段CD4T细胞的增殖分化受到抑制，增殖活性降低，继而IL-2水平下降，从而引起胃肠免疫功能受损出现一系列消化系症状.

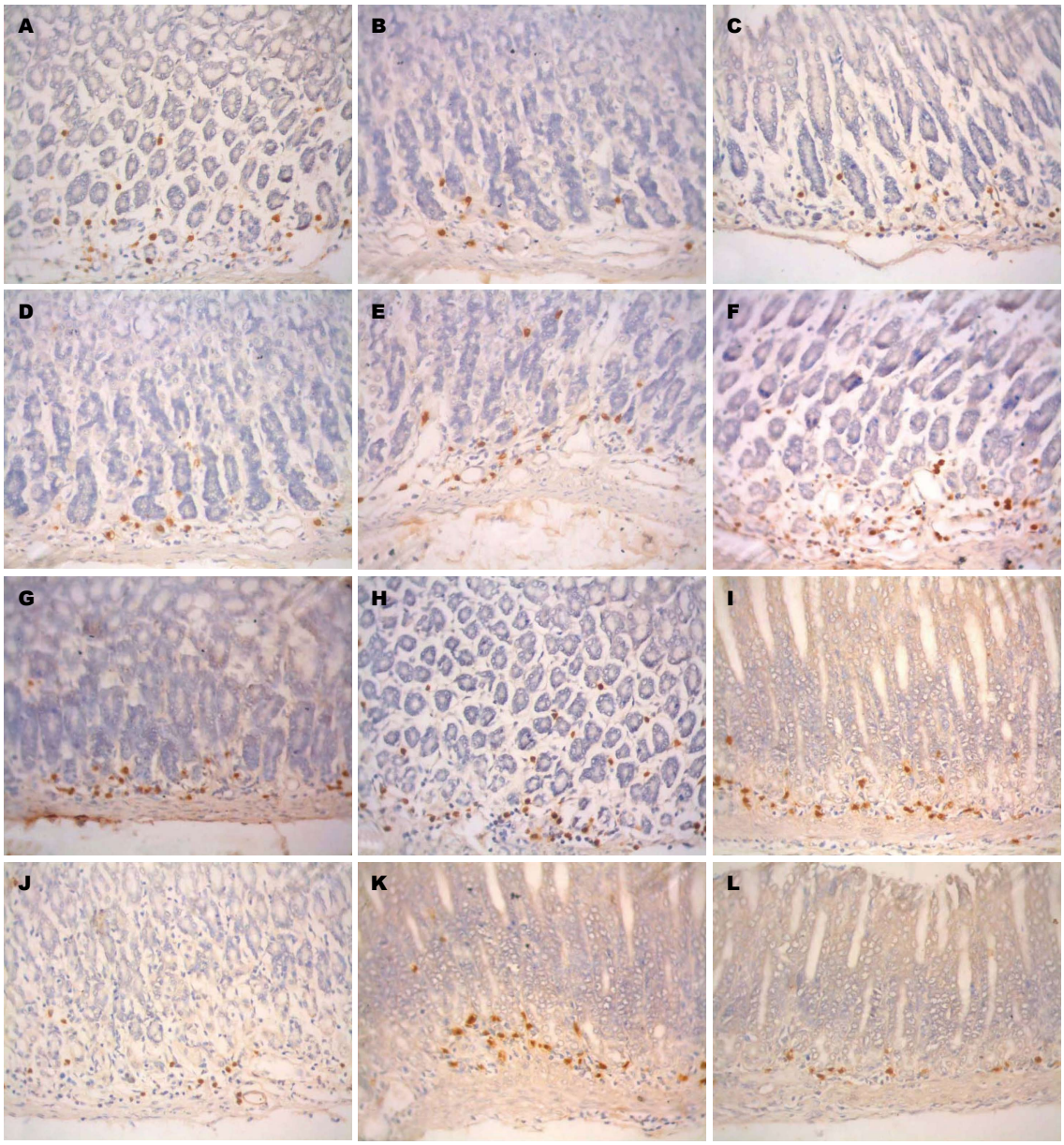


图 1 各组大鼠胃窦CD4、CD8、IL-2免疫反应阳性细胞(SABC × 400). A-D: CD4阳性细胞; A: NCG; B: HWG; C: MDG; D: HRG; E-H: CD8阳性细胞; E: SCG; F: HWG; G: MDG; H: HRG; I-L: IL-2阳性细胞; I: NCG; J: HWG; K: MDG; L: HRG. NCG: 正常对照组; HWG: 戒断组; MDG: 脱毒治疗组; HRG: 复吸组. IL-2: 白介素2.

大鼠胃窦CD8阳性细胞数量明显增加(P<0.05). MDG大鼠胃窦CD8阳性细胞数比HWG、HRG减少，比NCG、SCG组增多，与其余各组比较皆有显著差异(P<0.05, 表1).

2.3.2 各组大鼠胃窦黏膜CD4、CD8和IL-2阳性细胞平均灰度值: CD4、IL-2阳性细胞在NCG、各组SCG组及MDG之间的平均灰度值差异无显著性(P>0.05); 在HWG和HRG大鼠胃窦阳性细胞平均灰度值增加明显(P<0.05), 但这两组之间无显著差异. CD8-IR阳性细胞在HWG和HRG时平均灰度值显著下降，差异具有统计学意义(P<0.05). 其余各组无显著差异(图2).

3 讨论

胃肠道内在的神经支配系统-肠神经系统(enteric nervous system, ENS)能使胃肠道在无中枢神经系统支配情况下，能自主、协调地完成复杂的蠕动、分泌、反射等活动. 胃肠道除了作为重要的消化系统之外，还是一个复杂的神经-内分泌-免疫系统.

胃肠黏膜T细胞位于上皮和固有层内，对胃肠免疫起重要的调节作用，能防御病原菌的入侵，对黏膜有保护作用. T细胞依其表面标志物不同可分为$CD4^+$ T细胞和$CD8^+$ T细胞两个亚群[7]. CD4阳性T细胞通过分泌细胞因子来调节

表 1 各组大鼠胃窦黏膜中CD4、CD8、IL-2阳性细胞数量的变化 (mean ± SD)

分组	CD4	*P*值	CD8	*P*值	IL-2	*P*值
正常对照组	15.944 ± 1.661		18.611 ± 2.477		21.824 ± 2.556	
盐水对照组1	15.167 ± 1.425	0.111	18.222 ± 1.114	0.1507	21.000 ± 2.179	0.282
盐水对照组2	15.056 ± 1.626	0.069	18.056 ± 1.211	0.344	21.353 ± 1.902	0.538
盐水对照组3	15.111 ± 1.676	0.088	18.474 ± 1.679	0.812	20.647 ± 1.998	0.125
戒断组	8.500 ± 1.150	0.0001	26.167 ± 2.203	0.0001	13.118 ± 3.180	0.0001
脱毒治疗组	14.440 ± 1.423	0.002	19.882 ± 1.576	0.034	22.000 ± 2.031	0.817
复吸组	10.278 ± 1.074	0.0001	26.778 ± 1.592	0.0001	8.5290 ± 1.179	0.0001

IL-2: 白介素2.

■应用要点

通过观察海洛因戒断、脱毒和复吸期间胃窦部分细胞因子的改变, 为海洛因滥用引起胃肠功能紊乱的机制提供相关的形态学资料, 为临床帮助患者脱毒的同时辅以胃肠免疫治疗提供相应的理论依据.

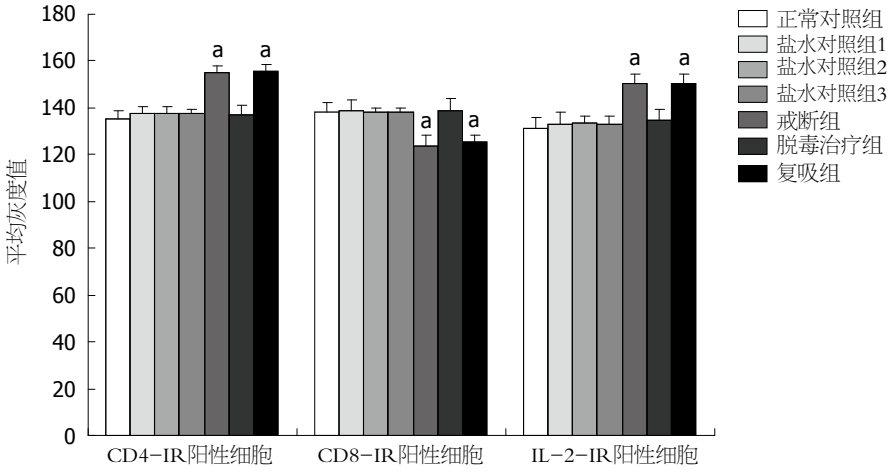


图 2 各组大鼠胃窦黏膜中CD4、CD8、IL-2阳性细胞平均灰度值的变化. $^aP<0.05$ *vs* 本组内正常对照组、盐水对照组各组、脱毒治疗组. IL-2: 白介素2.

机体免疫功能, 具有辅助T淋巴细胞转变为效应细胞、辅助B淋巴细胞生成抗体等作用; CD8阳性T细胞具有抑制T细胞活性, 抑制B细胞产生抗体和细胞毒素等作用, 起到抑制细胞和体液免疫的作用, 对免疫应答有负调节效应[8]. 正常人机体内CD4/CD8的比例大约CD4为60%、CD8为30%, 若比例发生改变会导致免疫功能异常. IL-2主要由$CD4^+$ T细胞产生, 生理状态下主要通过自分泌和旁分泌方式作用于局部靶细胞, 起显著增强免疫作用, 其产生水平的高低能反映人体免疫功能状况. 此外, 在胃肠道的组织中还存在大量阿片受体, 他们对消化功能也起着重要调节作用, 当长期大量摄取外源性阿片物质, 可使整个阿片肽系统功能降低. 戒断时, 纳洛酮等竞争性的拮抗各类阿片受体, 使阿片肽系统的调节作用丧失, 出现腹泻等胃肠功能紊乱的戒断症状[9].

有报道[10], 吗啡戒断对免疫系统有损害. 本实验观察到海洛因戒断大鼠出现严重的腹泻等戒断症状, 且HWG大鼠胃窦黏膜中CD4及其细胞因子IL-2阳性细胞表达显著减弱, 提示此阶段, $CD4^+$ T细胞的增殖分化受到抑制, 增殖活性降低导致IL-2水平下降. IL-2的减少会抑制B细胞活化转化为浆细胞, 使抗体分泌减少, 致使胃黏膜的细胞免疫和体液免疫功能受损, 不能有效清除致病因子, 而入侵的病原菌增多使得CD8表达增强.

美沙酮为μ-阿片受体激动剂, 由于其半衰期长、戒断症状轻、脱瘾成功率高而被广泛地用于阿片类成瘾的治疗[11]. 经过长期使用美沙酮脱毒治疗, 海洛因成瘾者的免疫功能有所恢复[12]. 本研究结果, 美沙酮脱毒组大鼠胃窦黏膜内CD4、CD8和IL-2的表达均有所恢复, 与Li等[13]、徐靖等[14]报道结果基本相符, 提示脱毒能有助于CD4、CD8细胞恢复, CD4细胞活性增强产生的IL-2也逐渐增多, 均参与了胃黏膜免疫功能的修复, 改善机体的免疫功能, 有效杀灭致病因子.

研究表明[13,15], 吗啡和海洛因抑制了机体的免疫系统, CD4表达减弱, 分泌IL-2减少; 况应敏等[16]对海洛因依赖者外周血中T细胞亚群进行检测, 发现总T细胞减少, CD4细胞显著降低且CD4/CD8也明显下降, 推测海洛因能加速T细胞凋亡使数量减少. 本实验将美沙酮脱毒大鼠再次注射海洛因成瘾以模拟复吸过程, 结果观察

■同行评价
本文选题较好, 设计合理, 对探讨海洛因对消化系统免疫功能的影响有一定的意义.

复吸大鼠胃窦CD4、IL-2再次减少, CD8表达增多, 提示复吸对胃窦黏膜免疫功能再次造成损伤. 这也是长期使用海洛因者抗感染力下降, 容易受病毒、细菌感染, 并易出现严重并发症的主要原因.

4 参考文献

1 Epstein DH, Preston KL, Stewart J, Shaham Y. Toward a model of drug relapse: an assessment of the validity of the reinstatement procedure. *Psychopharmacology* (Berl) 2006; 189: 1-16 [PMID: 17019567 DOI: 10.1007/s00213-006-0529-6]
2 Rehermann B. Hepatitis C virus versus innate and adaptive immune responses: a tale of coevolution and coexistence. *J Clin Invest* 2009; 119: 1745-1754 [PMID: 19587449 DOI: 10.1172/JCI39133]
3 Zamarron BF, Chen W. Dual roles of immune cells and their factors in cancer development and progression. *Int J Biol Sci* 2011; 7: 651-658 [PMID: 21647333 DOI: 10.7150/ijbs.7.651]
4 潘贵书, 徐国强, 李淑芳. 海洛因成瘾大鼠模型的建立. 贵阳医学院学报 1997; 12: 46
5 Maldonado R, Negus S, Koob GF. Precipitation of morphine withdrawal syndrome in rats by administration of mu-, delta- and kappa-selective opioid antagonists. *Neuropharmacology* 1992; 31: 1231-1241 [PMID: 1335131 DOI: 10.1016/0028-3908(92)90051-P]
6 叶峻, 蒙子卿, 韦世秀, 刘佳娟, 郑毅, 韦献良, 黄绍明, 周燕. 海洛因成瘾复吸动物模型的建立. 广西医科大学学报 2003; 20: 832-835
7 Smith PM, Garrett WS. The gut microbiota and mucosal T cells. *Front Microbiol* 2011; 2: 111 [PMID: 21833339 DOI: 10.3389/fmicb.2011.00111]
8 武冬梅, 李素清, 狄晓艳, 白剑英. SO2衍生物对C57BL/6小鼠肝脏T细胞亚群CD4/CD8的影响. 生态毒理学报 2010; 5: 351-355
9 Gallego X, Murtra P, Zamalloa T, Canals JM, Pineda J, Amador-Arjona A, Maldonado R, Dierssen M. Increased opioid dependence in a mouse model of panic disorder. *Front Behav Neurosci* 2010; 3: 60 [PMID: 20204153]
10 Kelschenbach J, Barke RA, Roy S. Morphine withdrawal contributes to Th cell differentiation by biasing cells toward the Th2 lineage. *J Immunol* 2005; 175: 2655-2665 [PMID: 16081842]
11 Stotts AL, Dodrill CL, Kosten TR. Opioid dependence treatment: options in pharmacotherapy. *Expert Opin Pharmacother* 2009; 10: 1727-1740 [PMID: 19538000 DOI: 10.1517/14656560903037168]
12 Neri S, Bruno CM, Pulvirenti D, Malaguarnera M, Italiano C, Mauceri B, Abate G, Cilio D, Calvagno S, Tsami A, Ignaccolo L, Interlandi D, Prestianni L, Ricchena M, Noto R. Randomized clinical trial to compare the effects of methadone and buprenorphine on the immune system in drug abusers. *Psychopharmacology* (Berl) 2005; 179: 700-704 [PMID: 15806416 DOI: 10.1007/s00213-005-2239-x]
13 Li HY, Zhang R, Cui CL, Han JS, Wu LZ. Damage of splenic T lymphocyte proliferation and differentiation and its normalization by electroacupuncture in morphine-dependent mice mode. *Evid Based Complement Alternat Med* 2011; 2011: 424092 [PMID: 21747891]
14 徐靖, 张勇, 石向东, 冯铁建, 周海涛. HIV阳性的海洛因依赖者戒毒前后120天CD4+T变化. 中国药物滥用防治杂志 2008; 14: 91-93
15 Azarang A, Mahmoodi M, Rajabalian S, Shekari MA, Nosratabadi J, Rezaei N. T-helper 1 and 2 serum cytokine assay in chronic opioid addicts. *Eur Cytokine Netw* 2007; 18: 210-214 [PMID: 17993452]
16 况应敏, 朱月春, 况颖, 孙源, 华琛, 何文倚. 青少年吸毒者免疫细胞、细胞因子和生长激素的改变. 细胞与分子免疫学杂志 2007; 23: 821-823

编辑 李军亮 电编 闫晋利

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2013年6月18日; 21(17): 1595-1601
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

基质金属蛋白酶纤溶系统在大鼠酒精性肝纤维化形成中的作用

陈珺明, 田淑霞, 邢练军, 郑培永, 季 光

陈珺明, 田淑霞, 上海交通大学附属第六人民医院中医科 上海市 200233
邢练军, 郑培永, 季光, 上海中医药大学龙华医院消化内科 上海中医药大学脾胃病研究所 上海市 200032
陈珺明, 博士, 副主任医师, 主要从事慢性肝病的研究.
教育部新世纪优秀人才支持计划基金资助项目, No. NCET07-0563
上海市卫生局科技基金资助项目, No. 2010L060A
作者贡献分布: 课题设计由陈珺明与季光共同完成; 研究过程操作由陈珺明与田淑霞完成; 研究所用试剂及分析工具由邢练军提供; 数据分析由陈珺明与郑培永完成; 本论文写作由陈珺明与季光共同完成.
通讯作者: 季光, 教授, 主任医师, 博士生导师, 200032, 上海市宛平南路725号, 上海中医药大学脾胃病研究所.
jiliver@vip.sina.com
电话: 021-64286261
收稿日期: 2013-04-04 修回日期: 2013-04-22
接受日期: 2013-05-12 在线出版日期: 2013-06-18

Role of matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of metalloproteinases type-1 in the development of alcoholic liver fibrosis in rats

Jun-Ming Chen, Shu-Xia Tian, Lian-Jun Xing, Pei-Yong Zheng, Guang Ji

Jun-Ming Chen, Shu-Xia Tian, Shanghai Sixth People's Hospital Jiaotong University, Shanghai 200233, China
Lian-Jun Xing, Pei-Yong Zheng, Guang Ji, Institute of Gastroenterology, Longhua Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China
Supported by: the Program for New Century Excellent Talents in University, No. NCET07-0563; the Technology Fund of Shanghai Municipal Health Bureau, No. 2010L060A
Correspondence to: Guang Ji, Professor, Chief Physician, Institute of Digestive Diseases, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, 725 Wanping South Road, Shanghai 200032, China. jiliver@vip.sina.com
Received: 2013-04-04 Revised: 2013-04-22
Accepted: 2013-05-12 Published online: 2013-06-18

Abstract

AIM: To study the role of matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of metalloproteinases type-1 in alcoholic liver fibrosis (ALF) in rats by dynamically monitoring their expression in ALF.

METHODS: SD rats were randomly divided into three groups: a control group, a CCl_4 group and an experimental group. The experiment group was intragastrically given a mixture (560 mL/L alcohol, 10 mL/kg; corn oil 2 mL/kg; pyrazole 25 mg/kg) once a day and an intraperitoneal injection of 0.3 mL/kg 25% CCl_4 solution (in olive oil) twice a week. The CCl_4 group received an intraperitoneal injection of CCl_4 solution and was intragastrically given equal volume of normal saline (12 mL/kg per day). The control group was given equal volume of normal saline both intraperitoneally and intragastrically. The rats were anaesthetized and killed 4, 8, 10 and 12 wk after modeling. Serum levels of alanine aminotransferase and aspartate amino-transferase were measured. Pathological changes in liver tissues were observed. The expression of matrix metalloproteinases2 (MMP2), MMP9 and type-1 tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP-1) was detected by Western blot and real-time PCR.

RESULTS: Compared to the control group, the CCl_4 group showed no significant changes in body weight, liver weight, liver/body weight ratio and serum transaminase levels, but the experimental group had significantly decreased body weight and significantly increased liver weight, liver/body weight ratio and serum transaminases. In the experimental group, with the increase in the severity of liver fibrosis, MMP2, MMP9 and TIMP-1 levels were gradually elevated, and expression of TIMP-1 increased more obviously than that of MMP2 and MMP9.

CONCLUSION: MMP2, MMP9 and TIMP-1 may play an important role in the pathogenesis of ALF in rats.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Alcholic liver fibrosis; Matrix metalloproteinases; Tissue inhibitor of metalloproteinases type-1

Chen JM, Tian SX, Xing LJ, Zhen PY, Ji G. Role of matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of metalloproteinases

■背景资料
酒精性肝纤维化(alcohol liver fibrosis, ALF)在肝硬化的病因构成比从1999年的10.8%上升到2003年的24.0%. 如何有效地预防和治疗酒精性肝病, 是国民经济和社会发展中亟待解决的问题. 现代研究表明肝纤维化是可以逆转的.

■同行评议者
鲁玉辉, 副教授, 福建中医药大学中医学院; 倪润洲, 教授, 南通大学附属医院消化内科

■研发前沿
基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)可以调解细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的含量, 而在ALF中此类研究尚未见报道.

type-1 in the development of alcoholic liver fibrosis in rats. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(17): 1595-1601 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1595.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i17.1595

摘要

目的: 通过动态观察基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)和其抑制物1型金属蛋白酶组织抑制剂(type-1 tissue inhibitor of metalloproteinases, TIMP-1)大鼠酒精性肝纤维化(alcohol liver fibrosis, ALF)形成中的变化, 探讨在ALF形成中MMPs纤溶途径的作用.

方法: ♂SD大鼠随机分为空白组、四氯化碳(CCl_4)组和造模组. 造模组采用56度二锅头酒、玉米油、吡唑混合物灌胃联合腹腔注射CCl_4橄榄油溶液(CCl_4∶橄榄油 = 1∶3)的方法造模型. 分别于第4、8、10、12周处死大鼠, 观察大鼠肝功能变化, 肝组织病理学改变. 采用蛋白印迹法、荧光定量PCR法检测MMP2、MMP9和TIMP-1蛋白和mRNA表达的动态变化.

结果: 与同期空白组大鼠相比, CCl_4组大鼠体质量、肝质量、肝体比及肝功能均无明显变化(P>0.05), 而模型组大鼠体质量明显降低; 肝质量、肝体比明显增加, 转氨酶显著升高, 肝纤维化程度明显加重, 空白组和CCl_4组大鼠肝组织MMP-2、MMP-9、TIMP-1蛋白及mRNA表达之间无显著性差异, 而模型组大鼠肝组织MMP-2、MMP-9、TIMP-1蛋白及mRNA表达显著高于空白组(P<0.01)随着肝纤维化的形成, MMP-2、MMP-9和TIMP-1的表达均逐渐增强, TIMP-1的表达明显强于相应的MMP-2或MMP-9.

结论: TIMP-1过多增长, MMP-2及MMP-9的生成相对不足, 促进了ALF的形成. 抑制TIMP-1的过度表达, 或者增加MMP-2及MMP-9的表达可能是治疗ALF的重要途径之一.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 酒精性肝纤维化; 基质金属蛋白酶2; 基质金属蛋白酶9; 1型金属蛋白酶组织抑制剂

核心提示: 在酒精性肝纤维化(alcohol liver fibrosis, ALF)形成过程中, 1型金属蛋白酶组织抑制剂(type-1 tissue inhibitor of metalloproteinases, TIMP-1)过多增长, 基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)-2及MMP-9相对不足, MMPs与TIMPs之间的平衡被破坏, 肝细胞微环境稳态失衡, 导致细胞外基质(extracellular matrix)过多沉积的是ALF形成的重要机制, 抑制TIMP-1的过度表达, 或者增加MMP-2及MMP-9的表达可能是治疗ALF的重要途径之一.

陈珺明, 田淑霞, 邢练军, 郑培永, 季光. 基质金属蛋白酶纤溶系统在大鼠酒精性肝纤维化形成中的作用. 世界华人消化杂志 2013; 21(17): 1595-1601 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1595.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i17.1595

0 引言

肝纤维化是继发于肝脏炎症或损伤后组织修复过程中的代偿反应, 以肝内细胞外基质(extracellular matrix, ECM)过度沉积, 结缔组织增生为病理特征, 是各种慢性肝病最后发展为肝硬化的必经阶段, 因此积极控制肝纤维化进展具有重要的临床意义. 基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)主要功能是降解ECM成分. 而1型金属蛋白酶组织抑制剂(type-1 tissue inhibitor of metalloproteinases, TIMP-1)是组织中MMPs的主要内源性抑制因子. MMPs与TIMPs在肝脏中维持一种动态平衡的状态是肝脏保持正常功能的基础之一. 正常情况下, 当有过量的ECM产生时, 会被MMPs降解, 同时TIMP-1又适当抑制着MMPs的活性, 不至于损伤正常肝脏组织. 一旦有各种致病因子打破这种动态平衡, 则可导致MMPs活性受到影响, 造成ECM堆积, 最终发生肝纤维化. 但这一机制在酒精性肝纤维化(alcohol liver fibrosis, ALF)中的作用尚无报道. 本研究通过体内实验, 观察MMPs纤溶途径在ALF的动态变化. 探讨MMPs纤溶途径在ALF形成中的作用.

1 材料和方法

1.1 材料 SPF级♂SD大鼠(上海中医药大学龙华医院实验动物中心)150只, 体质量260 g±20 g, 许可证号: SCXK(沪)2007-0005, 分笼饲养, 室温15 ℃-25 ℃, 自由饮水, 普通饲料喂养. HE及Masson染液(上海虹桥乐翔医用试剂有限公司); TRIzol、逆转录(reverse transcription, RT)试剂盒(美国Invitrogen公司); DNA Marker(上海申能博彩生物科技有限公司); SYBR Green Supermix(日本东洋公司); 兔抗大鼠MMP2单克隆抗体试剂盒、兔抗大鼠MMP-9单克隆抗体试剂盒、羊抗大鼠TIMP-1单克隆抗体试剂盒(Santa Cruz Biotechnology INC); UV-2102C分光

表 1 *MMP-2*、*MMP-9*、*TIMP-1*和GAPDH引物序列

基因名称	引物序列
MMP-2	Forward: 5'-ACTCCCACTTTGATGACGAC-3'
	Reverse: 5'-GAAGAGGAAAGGGAACTTGC-3'
MMP-9	Forward: 5'-GCACAGTGAGTGTGGCTGG-3'
	Reverse: 5'-GGTGGATATGAGGGTGATGG-3'
TIMP-1	Forward: 5'-CCTCAGAAGTCAACCAGACC-3'
	Reverse: 5'-CTCCGACCTGTGGAAGTATC-3'

MMP: 基质金属蛋白酶; TIMP-1: 抑制物1型金属蛋白酶组织抑制剂.

表 2 酒精性肝纤维化大鼠体质量、肝质量、肝体比的变化(mean ± SD)

分组	*n*	体质量(g)	肝质量(g)	肝体比(%)
空白组	10	501.38 ± 31.259	12.39 ± 1.01	2.47 ± 0.15
CCl_4组	10	468.50 ± 36.93	11.51 ± 1.64	2.45 ± 0.29
造模组	11	437.91 ± 53.93[b]	14.82 ± 1.36[b]	3.42 ± 0.48[b]

[b]*P*<0.01 *vs* 空白组.

光度计(Uniqem公司); 凝胶成像系统(上海四星生物技术有限公司); 实时荧光聚合酶链式反应ABI7300型检测仪(美国ABI公司); 引物由上海英骏生物科技有限公司合成, 序列见表1.

1.2 方法

1.2.1 动物分组及处理: 大鼠随机分为空白组10只, CCl_4组10只, 其余130只为造模组. 造模参考文献方法[1], 10 mL/(kg·d)56度二锅头酒、2 mL/(kg·d)玉米油、25 mg/(kg·d)吡唑混合物灌胃, 1次/d; 第2周起按0.3 mL/(kg·d)剂量予腹腔注射微量CCl_4橄榄油溶液(CCl_4∶橄榄油 = 1∶3), 2次/wk. CCl_4组予与模型组等量的CCl_4橄榄油溶液腹腔注射, 并以等体积生理盐水灌胃. 空白组予与造模组等体积生理盐水腹腔注射和灌胃. 第4、8、10、12周以盐酸氯胺酮腹腔注射麻醉, 腹主动脉采血后处死动物, 常规留取血清. 摘取肝脏称质量后, 于肝右叶切取肝组织2块, 4%甲醛溶液固定, 用于观察肝脏病理学变化.

1.2.2 指标检测: (1)ALF大鼠造模过程中肝功能变化: 赖氏法检测大鼠血清丙氨酸氨基转移酶和门冬氨酸氨基转移酶活性, 均采用7170S型自动检测仪检测; (2)病理学检测: HE染色, 观察肝组织病理损害情况. Masson染色后行肝纤维化程度评分, 评分标准参照文献[2], 汇管区纤维组织无增生为“-”; 增生后面积占肝小叶1/3以下为“+”; 占肝小叶1/3-2/3为“++”; 占肝小叶2/3以上为“+++”. 每个“+”记1分, 每个标本记总分. 积分越高, 表明肝脏纤维化程度及病理损害越重; (3)Western blot法: 100 mg肝组织置于1 mL RIPA裂解液4 ℃匀浆, 12000 *g*离心取上清测定总蛋白含量. 取30 μg总蛋白进行8%-10% SDS-PAGE凝胶电泳. 经硝酸纤维素膜转移后, 丽春红染色观察转膜效率. 50 g/L脱脂牛奶中封闭, 分别加入特异性兔抗大鼠MMP-2、MMP-9或TIMP-1单克隆抗体(1∶1000稀释)、鼠抗鼠GAPDH单克隆抗体及辣根过氧化物酶标记的抗兔、抗鼠多克隆抗体(1∶5000稀释)进行免疫反应, 用凝胶图像处理系统分析目标; (4)Real-Time PCR法: 肝组织100 mg, 匀浆后用TRIzol抽提总RNA并测定含量及纯度. 用RT试剂盒进行实时PCR反应. 反应体系为25 μL: cDNA和上下游引物各0.5 μL, SYBS green supermix 12.5 μL, 去离子水11 μL. 循环条件: 95 ℃预变性3 min, 95 ℃变性30 s, 62 ℃退火45 s, 72 ℃延伸45 s, 60次循环, 55 ℃ 10 min. 实时数据采用仪器自带软件ABI Prism 7300 SDS Software分析, 计算出MMP-2、MMP-9和TIMP-1 mRNA的相对表达量.

统计学处理 应用SPSS18.0软件进行分析, 各组计量资料以mean±SD表示, 用单因素方差分析, 两两比较用LSD-*t*法, 等级资料采用Kruskall-Wallis法检验. 检验水准$\alpha = 0.05$.

2 结果

2.1 ALF大鼠造模第12周体质量、肝质量、肝体比变化 与空白组大鼠相比, CCl_4组大鼠体质量无明显变化(*P*>0.05), 而模型组体质量明显降低(*P*<0.05); 肝质量、肝体比明显增加(*P*<0.05)(表2).

2.2 ALF大鼠肝组织病理的变化 HE染色显示, 空白组和CCl_4组大鼠肝小叶结构完整, 肝细胞放射状排列, 无变性、坏死和炎细胞浸润. Masson染色显示肝小叶中央静脉外少量绿染胶原纤维分布, 汇管区管壁偶尔有少许细小的绿染胶原纤维包围. 与空白组比较, 模型组大鼠肝小叶形成弥漫性以大泡为主的混合性脂肪变, 肝细胞坏死增多, 小叶各带可见不同程度的点状坏死及Mallory小体形成, 可见较多量多核细胞、淋巴细胞及单核细胞浸润. 肝小叶中央静脉外及汇管区周围有大量绿染胶原纤维包绕, 部分包绕肝小叶, 但无假小叶形成, 窦周亦有明显的纤维组织增生. 对大鼠肝纤维化进行评分(Masson染色, 表3, 图1, 图2).

■相关报道
季光等对酒精性肝病进行了多年研究, 并用中药进行干预, 收到了不错的效果.

■创新盘点

部分肺、肾纤维化研究报告中，MMPs在纤维化形成后逐渐下降，而其抑制因子迅速升高. 而在本研究中发现在肝纤维化形成后MMPs及其抑制因子均继续升高，只是抑制因子升高更快.

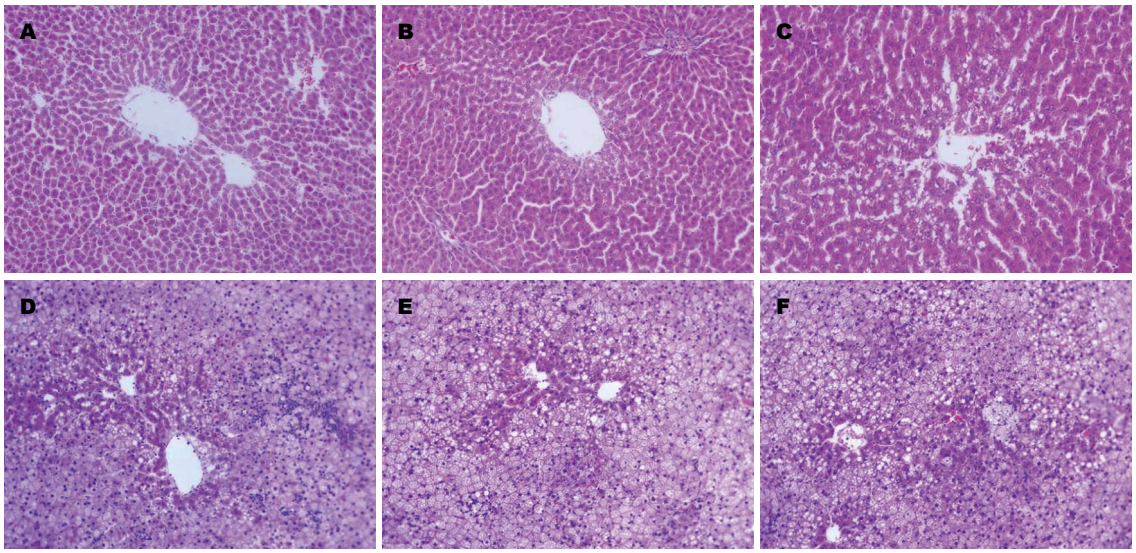


图 1 HE染色检测各组大鼠肝组织病理改变(光学显微镜，×200). A: 空白组; B: CCl_4组; C: 造模4 wk; D: 造模8 wk; E: 造模10 wk; F: 造模12 wk.

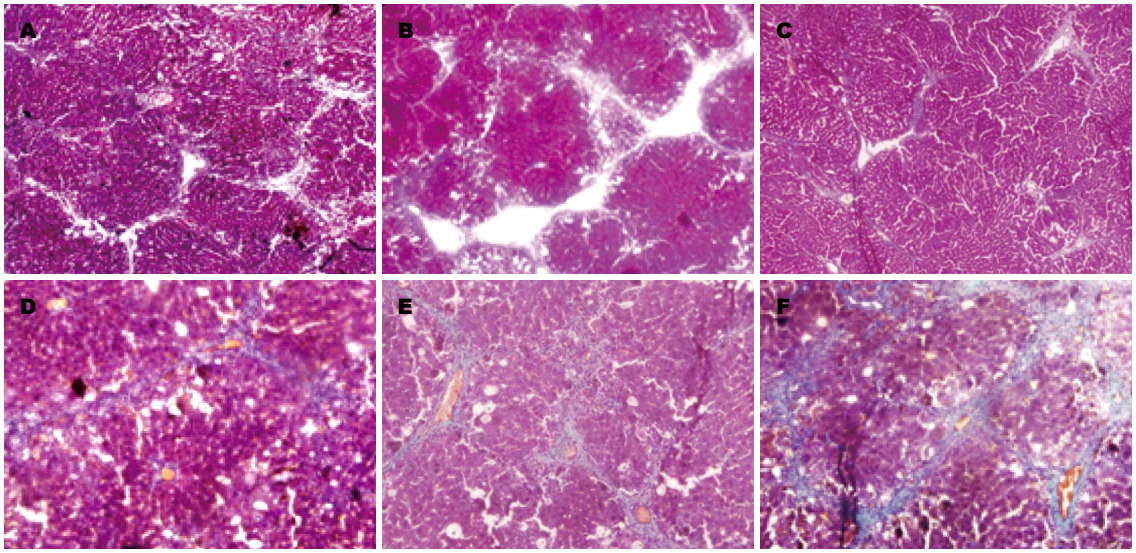


图 2 Masson三色染色检测各组大鼠肝组织病理改变(光学显微镜，×200). A: 空白组; B: CCl_4组; C: 造模4 wk; D: 造模8 wk; E: 造模10 wk; F: 造模12 wk.

表 3 酒精性肝纤维化大鼠纤维化程度的变化

分组	肝纤维化程度				
	–	+	++	+++	
CCl_4组	7	3	0	0	
模型组	0	3	5	4	$\chi^2 = 24.9113$, $P<0.01$

2.3 ALF大鼠肝功能变化 与同期空白组相比，CCl_4组肝功能无明显差异($P>0.05$)，ALF组大鼠转氨酶第10、12周显著升高($P<0.05$, $P<0.01$)(表4).

2.4 ALF大鼠MMPs迁溶途径的动态变化Western blot检测 空白组和CCl_4组大鼠肝组织MMP-2、MMP-9、TIMP-1蛋白表达之间无显著性差异($P>0.05$). 模型组大鼠肝组织MMP-2、MMP-9、TIMP-1蛋白表达显著高于空白组($P<0.01$)，三者均同步升高，三者升高幅度之间无明显差异(图3).

2.5 ALF大鼠MMPs迁溶途径的动态变化Real-time PCR检测 空白组和CCl_4组大鼠肝组织MMP-2、MMP-9、TIMP-1蛋白表达之间无显著性差异($P>0.0.5$). 模型组大鼠肝组织MMP-2、MMP-9、TIMP-1蛋白表达显著高于空白组($P<0.01$)，TIMP-1升幅高于MMP-2及MMP-9(图4).

3 讨论

酒精性肝病(alcoholic liver disease, ALD)是慢性肝病的常见形式之一. ALD具体的致病机制不

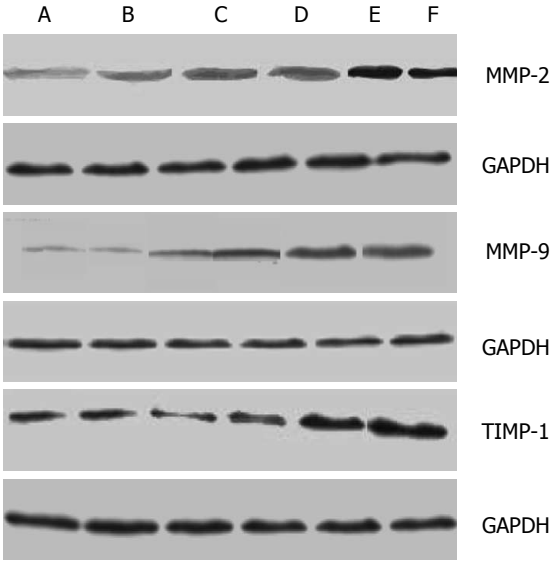


图 3 Western blot检测酒精性肝纤维化大鼠MMPs纤溶途径的动态变化. A: 空白组; B: CCl_4组; C: 造模4 wk; D: 造模8 wk; E: 造模10 wk; F: 造模12 wk. MMP: 基质金属蛋白酶; TIMP-1: 抑制物1型金属蛋白酶组织抑制剂.

表 4 酒精性肝纤维化大鼠肝功能变化 (mean ± SD, U/L)

分组	ALT	AST
空白组	33.90 ± 9.81	119.57 ± 28.63
CCl_4组	27.58 ± 3.03	116.90 ± 20.47
模型组	138.34 ± 43.35[b]	257.41 ± 162.31[b]

[b]P<0.01 *vs* 空白组. ALT: 丙氨酸转氨酶; AST: 谷草转氨酶.

详, 大部分学者认为可能主要与细胞死亡、组织损伤有关[3-5]. 过量饮酒是世界公认的致病、致残、致死原因之一[6,7]. ALD包括轻症ALD、酒精性脂肪肝、酒精性肝炎、ALF和酒精性肝硬化5种类型[8]. ALF是肝脏对慢性损伤的一种修复反应, 其进一步发展可引起肝小叶改建、假小叶和结节形成, 进入酒精性肝硬化[9]. 肝纤维化为一动态病理过程, 属可逆性病变[10,11]. 因此, 明确肝纤维化的发病机制, 阻断、抑制或逆转肝纤维化是成为临床治疗ALD的一个十分重要的靶点[12-14]. 本实验在参考以前各种造模方法和大量前期实验的基础上, 采用复合因素制作ALF大鼠模型, 本研究结果提示: 采用微量CCl_4对照, 与空白组无论是肝质量、体质量、肝功能、肝纤维化评分以及在MMP-2、MMP-9和TIMP-1均无明显差异, 充分说明虽然CCl_4可诱导大鼠肝纤维化形成, 但在本实验中仅起协同作用[15,16]. 模型组大鼠肝纤维化程度明显升高. 模型组ALT和AST升高明显, 说明乙醇对肝细胞

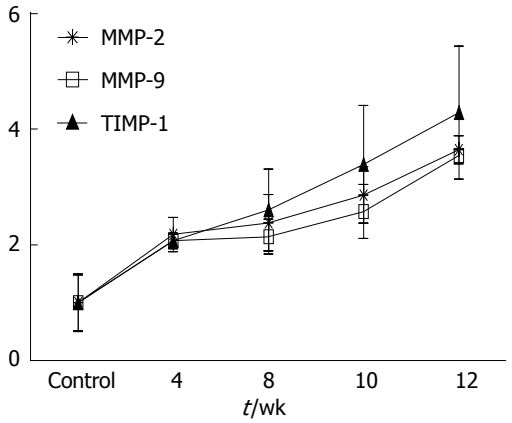


图 4 Real-time PCR检测酒精性肝纤维化大鼠基质金属蛋白酶的动态变化. MMP: 基质金属蛋白酶; TIMP-1: 抑制物1型金属蛋白酶组织抑制剂.

■应用要点
抑制TIMP-1的过度表达或者增加MMP-2及MMP-9的表达, 调解MMPs与TIMPs之间的平衡, 可能是治疗ALF的重要途径之一.

造成损伤, 符合ALF的临床表现. 由上可见, 复合因素制备ALF模型具有造模周期缩短、乙醇给予量可控、肝脏病理改变稳定、该模型不失为一种简便、快捷的ALF模型. 肝纤维化的病理特征是ECM的堆积, 破坏肝的组织结构和损坏肝功能[17]. 肝纤维化发生这一过程的最终结果既是ECM合成过多, 更大程度上尤其后期是由于降解的减少引起的[18,19]. MMPs和TIMPs二者参与了肝纤维化形成和降解恢复的全过程[20,21]. MMPs家族主要功能是降解ECM成分, 肝纤维化时, 在ECM降解中起关键作用的MMPs为MMP-2、MMP-9、MMP-1、MMP-3[22-25]. 较多的研究认为MMP-2在纤维化阶段升高, 而在肝硬化和肝纤维化恢复期逐渐降低. 朱跃科等[26]研究发现, MMP-2从基因水平、蛋白水平及酶活性在肝纤维化的形成过程中均增高. MMP-2的表达与酶活性在肝纤维化逆转过程中逐渐降低, 说明MMP-2与肝纤维化的发生发展密切相关. Leroy等[27]发现MMP-9在慢性丙型肝炎患者血清中MMP-9的水平与纤维化分期呈明显负相关, 即随着疾病的进展其水平逐渐降低. 激活的MMPs主要被特异的TIMPs所抑制, 他是组织中MMP的主要内源性抑制因子. 目前已发现的TIMP肝内主要存在TIMP-1和TIMP-2[28], MMPs与TIMPs在肝脏中维持一种平衡统一的状态, 当有过量的ECM产生时, 会被MMPs降解, 同时TIMPs又适当抑制着MMPs的活性, 不至于损伤正常肝脏组织. 一旦有各种致病因子打破这种统一, 从而导致肝纤维化的发生、发展. 在肝纤维化发展过程中, TIMP-1的表达增强, 增加了胶原纤维的积累并促进肝纤维化的发展, 是肝纤维化形成

■同行评价
本文题目简明, 研究目的明确, 科学问题与结论一致, 掌握了国内外相关研究进展, 并有一定的创新性. 对于揭示肝纤维化形成的分子机制及寻求药物的多途径、多靶点干预有一定意义.

的重要因素[29]. Yoshiji等[30,31]、通过*TIMP-1*转基因小鼠模型研究证实, 在CCl_4肝损伤时, *TIMP-1*转基因小鼠过度表达TIMP-1, 肝纤维化发展比野生型小鼠更快, 范围更广, 但在无损伤原因时, *TIMP-1*转基因小鼠过度表达TIMR-1但无肝纤维化, 表明肝纤维化发展是ECM对肝损伤的反应性合成增加与TIMP-1介导的ECM降解减少的共同结果. 相反, 用MMP-9的突变蛋白作为TIMP-1的清除剂, 也可因为增加基质的吸收而使纤维化减轻[32]. 在本研究中发现, 随着肝纤维化的进展, MMP-2、MMP-9及TIMP-1均同时升高, TIMP-1的升高幅度超过MMP-2及MMP-9, 提示在ALF的形成中, MMPs与TIMPs之间的平衡被打破, 导致ECM的过多沉积并促进了ALF的发生与发展.

总之, 在ALF形成过程中, TIMP-1过多增长, MMP-2及MMP-9相对不足, MMPs与TIMPs之间的平衡被破坏, 肝细胞微环境稳态失衡, 导致ECM过多沉积的是ALF形成的重要机制, 抑制TIMP-1的过度表达, 或者增加MMP-2及MMP-9的表达可能是治疗ALF的重要途径之一.

4 参考文献

1 王磊, 季光, 郑培永, 龙爱华. 大鼠酒精性肝纤维化复合模型的建立. 中西医结合学报 2006; 4: 281-284
2 王泰龄. 酒精性肝病的病理诊断标准、分级、分期及分类. 中华肝脏病杂志 2001; 9: 312-313
3 O'Shea RS, Dasarathy S, McCullough AJ. Alcoholic liver disease. *Hepatology* 2010; 51: 307-328 [PMID: 20034030]
4 Stickel F, Seitz HK. Alcoholic steatohepatitis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2010; 24: 683-693 [PMID: 20955970 DOI: 10.1016/j.bpg.2010.07.003]
5 Miller AM, Horiguchi N, Jeong WI, Radaeva S, Gao B. Molecular mechanisms of alcoholic liver disease: innate immunity and cytokines. *Alcohol Clin Exp Res* 2011; 35: 787-793 [PMID: 21284667 DOI: 10.1111/j.1530-0277.2010.01399.x]
6 Li TK. Quantifying the risk for alcohol-use and alcohol-attributable health disorders: present findings and future research needs. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23 Suppl 1: S2-S8 [PMID: 18336658 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2007.05298.x]
7 Setshedi M, Wands JR, Monte SM. Acetaldehyde adducts in alcoholic liver disease. *Oxid Med Cell Longev* 2010; 3: 178-185 [PMID: 20716942 DOI: 10.4161/oxim.3.3.12288]
8 Arteel GE. New role of plasminogen activator inhibitor-1 in alcohol-induced liver injury. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23 Suppl 1: S54-S59 [PMID: 18336665 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2007.05285.x]
9 Parsons CJ, Takashima M, Rippe RA. Molecular mechanisms of hepatic fibrogenesis. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22 Suppl 1: S79-S84 [PMID: 17567474]
10 Friedman SL. Reversibility of hepatic fibrosis and cirrhosis--is it all hype? *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2007; 4: 236-237 [PMID: 17476207 DOI: 10.1038/ncpgasthep0813]
11 Gunzerath L, Hewitt BG, Li TK, Warren KR. Alcohol research: past, present, and future. *Ann N Y Acad Sci* 2011; 1216: 1-23 [PMID: 21182533 DOI: 10.1111/j.1749-6632.2010.05832.x]
12 Friedman SL. Mechanisms of disease: Mechanisms of hepatic fibrosis and therapeutic implications. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2004; 1: 98-105 [PMID: 16265071 DOI: 10.1038/ncpgasthep0055]
13 Frazier TH, Stocker AM, Kershner NA, Marsano LS, McClain CJ. Treatment of alcoholic liver disease. *Therap Adv Gastroenterol* 2011; 4: 63-81 [PMID: 21317995 DOI: 10.1177/1756283X10378925]
14 Lee UE, Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2011; 25: 195-206 [PMID: 21497738 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.03.003]
15 Lieber CS, Weiss DG, Morgan TR, Paronetto F. Aspartate aminotransferase to platelet ratio index in patients with alcoholic liver fibrosis. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 1500-1508 [PMID: 16863553]
16 Mueller S, Millonig G, Sarovska L, Friedrich S, Reimann FM, Pritsch M, Eisele S, Stickel F, Longerich T, Schirmacher P, Seitz HK. Increased liver stiffness in alcoholic liver disease: differentiating fibrosis from steatohepatitis. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 966-972 [PMID: 20180235]
17 Stickel F, Urbaschek R, Schuppan D, Poeschl G, Oesterling C, Conradt C, McCuskey RS, Simanowski UA, Seitz HK. Serum collagen type VI and XIV and hyaluronic acid as early indicators for altered connective tissue turnover in alcoholic liver disease. *Dig Dis Sci* 2001; 46: 2025-2032 [PMID: 11575459]
18 Chambers JC, Zhang W, Sehmi J, Li X, Wass MN, Van der Harst P, Holm H, Sanna S, Kavousi M, Baumeister SE, Coin LJ, Deng G, Gieger C, Heard-Costa NL, Hottenga JJ, Kühnel B, Kumar V, Lagou V, Liang L, Luan J, Vidal PM, Mateo Leach I, O'Reilly PF, Peden JF, Rahmioglu N, Soininen P, Speliotes EK, Yuan X, Thorleifsson G, Alizadeh BZ, Atwood LD, Borecki IB, Brown MJ, Charoen P, Cucca F, Das D, de Geus EJ, Dixon AL, Döring A, Ehret G, Eyjolfsson GI, Farrall M, Forouhi NG, Friedrich N, Goessling W, Gudbjartsson DF, Harris TB, Hartikainen AL, Heath S, Hirschfield GM, Hofman A, Homuth G, Hyppönen E, Janssen HL, Johnson T, Kangas AJ, Kema IP, Kühn JP, Lai S, Lathrop M, Lerch MM, Li Y, Liang TJ, Lin JP, Loos RJ, Martin NG, Moffatt MF, Montgomery GW, Munroe PB, Musunuru K, Nakamura Y, O'Donnell CJ, Olafsson I, Penninx BW, Pouta A, Prins BP, Prokopenko I, Puls R, Ruokonen A, Savolainen MJ, Schlessinger D, Schouten JN, Seedorf U, Sen-Chowdhry S, Siminovitch KA, Smit JH, Spector TD, Tan W, Teslovich TM, Tukiainen T, Uitterlinden AG, Van der Klauw MM, Vasan RS, Wallace C, Wallaschofski H, Wichmann HE, Willemsen G, Würtz P, Xu C, Yerges-Armstrong LM, Abecasis GR, Ahmadi KR, Boomsma DI, Caulfield M, Cookson WO, van Duijn CM, Froguel P, Matsuda K, McCarthy MI, Meisinger C, Mooser V, Pietiläinen KH, Schumann G, Snieder H, Sternberg MJ, Stolk RP, Thomas HC, Thorsteinsdottir U, Uda M, Waeber G, Wareham NJ, Waterworth DM, Watkins H, Whitfield JB, Witteman JC, Wolffenbuttel BH, Fox CS, Ala-Korpela M, Stefansson K, Vollenweider P, Völzke H, Schadt EE, Scott J, Järvelin MR, Elliott P, Kooner JS. Genome-wide association study identifies loci influencing

concentrations of liver enzymes in plasma. *Nat Genet* 2011; 43: 1131-1138 [PMID: 22001757]
19 Mir RA, Chauhan SS. Down regulation of a matrix degrading cysteine protease cathepsin L, by acetaldehyde: role of C/EBPα. *PLoS One* 2011; 6: e20768 [DOI: 10.1371/journal.pone.0020768]
20 Okazaki I, Watanabe T, Hozawa S, Arai M, Maruyama K. Molecular mechanism of the reversibility of hepatic fibrosis: with special reference to the role of matrix metalloproteinases. *J Gastroenterol Hepatol* 2000; 15 Suppl: D26-D32 [PMID: 10759217]
21 Zhang LJ, Chen YX, Chen ZX, Huang YH, Yu JP, Wang XZ. Effect of interleukin-10 and platelet-derived growth factor on expressions of matrix metalloproteinases-2 and tissue inhibitor of metalloproteinases-1 in rat fibrotic liver and cultured hepatic stellate cells. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 2574-2579 [PMID: 15300910]
22 Hemmann S, Graf J, Roderfeld M, Roeb E. Expression of MMPs and TIMPs in liver fibrosis - a systematic review with special emphasis on anti-fibrotic strategies. *J Hepatol* 2007; 46: 955-975 [PMID: 17383048]
23 Zhou X, Hovell CJ, Pawley S, Hutchings MI, Arthur MJ, Iredale JP, Benyon RC. Expression of matrix metalloproteinase-2 and -14 persists during early resolution of experimental liver fibrosis and might contribute to fibrolysis. *Liver Int* 2004; 24: 492-501 [PMID: 15482348 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2004.0946.x]
24 Galli A, Svegliati-Baroni G, Ceni E, Milani S, Ridolfi F, Salzano R, Tarocchi M, Grappone C, Pellegrini G, Benedetti A, Surrenti C, Casini A. Oxidative stress stimulates proliferation and invasiveness of hepatic stellate cells via a MMP2-mediated mechanism. *Hepatology* 2005; 41: 1074-1084 [PMID: 15841469 DOI: 10.1002/hep.20683]
25 Han YP, Yan C, Zhou L, Qin L, Tsukamoto H. A matrix metalloproteinase-9 activation cascade by hepatic stellate cells in trans-differentiation in the three-dimensional extracellular matrix. *J Biol Chem* 2007; 282: 12928-12939 [PMID: 17322299 DOI: 10.1074/jbc.M700554200]
26 朱跃科, 王宝恩, 申凤俊, 贾继东, 马红. 实验性肝纤维化基质金属蛋白酶-2基因表达与酶活性的变化. 中华肝脏病杂志 2005; 13: 509-512
27 Leroy V, Monier F, Bottari S, Trocme C, Sturm N, Hilleret MN, Morel F, Zarski JP. Circulating matrix metalloproteinases 1, 2, 9 and their inhibitors TIMP-1 and TIMP-2 as serum markers of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C: comparison with PIIINP and hyaluronic acid. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 271-279 [PMID: 15046217]
28 Adya R, Tan BK, Punn A, Chen J, Randeva HS: Visfatin induces human endothelial VEGF and MMP-2/9 production via MAPK and PI3K/Akt signalling pathways: novel insights into visfatin-induced angiogenesis. *Cardiovasc Res* 2008; 78: 356-365
29 Zheng WD, Zhang LJ, Shi MN, Chen ZX, Chen YX, Huang YH, Wang XZ. Expression of matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in hepatic stellate cells during rat hepatic fibrosis and its intervention by IL-10. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 1753-1758 [PMID: 15793858]
30 Yoshiji H, Kuriyama S, Miyamoto Y, Thorgeirsson UP, Gomez DE, Kawata M, Yoshii J, Ikenaka Y, Noguchi R, Tsujinoue H, Nakatani T, Thorgeirsson SS, Fukui H. Tissue inhibitor of metalloproteinases-1 promotes liver fibrosis development in a transgenic mouse model. *Hepatology* 2000; 32: 1248-1254 [PMID: 11093731 DOI: 10.1053/jhep.2000.20521]
31 Yoshiji H, Kuriyama S, Yoshii J, Ikenaka Y, Noguchi R, Nakatani T, Tsujinoue H, Yanase K, Namisaki T, Imazu H, Fukui H. Tissue inhibitor of metalloproteinases-1 attenuates spontaneous liver fibrosis resolution in the transgenic mouse. *Hepatology* 2002; 36: 850-860 [PMID: 12297832 DOI: 10.1053/jhep.2002.35625]
32 Roderfeld M, Weiskirchen R, Wagner S, Berres ML, Henkel C, Grötzinger J, Gressner AM, Matern S, Roeb E. Inhibition of hepatic fibrogenesis by matrix metalloproteinase-9 mutants in mice. *FASEB J* 2006; 20: 444-454 [PMID: 16507762 DOI: 10.1096/fj.05-4828]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

本刊讯 2011-12-02, 中国科学技术信息研究所在北京发布2010年中国科技论文统计结果, 经过中国精品科技期刊遴选指标体系综合评价, 《世界华人消化杂志》被评为2011年度中国精品科技期刊. 中国精品科技期刊以其整体的高质量示范作用, 带动我国科技期刊学术水平的提高. 精品科技期刊的遴选周期为三年. (《世界华人消化杂志》编辑部)

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2013年6月18日; 21(17): 1602-1606
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

射频消融干预下兔VX2肿瘤病理学与凋亡的评估

张振华, 邝晓聪, 杨 红, 彭金波, 覃肖溪, 赵国志

■背景资料
在我国, 肝癌是一种发病率高、危害大的疾病. 常规手术治疗虽能获得较好疗效, 但存在诸多缺陷, 而射频消融(radiofrequency ablation, RFA)作为一种局部消融治疗方法, 具有创伤小, 易操作, 费用低, 并可有效灭活肿瘤. 本研究通过建立兔肝内VX2肿瘤模型, 并对其进行RFA干预处理, 观察肝肿瘤与肝组织细胞凋亡、坏死的病理学变化情况, 并进行区域划分.

张振华, 邝晓聪, 赵国志, 广西医科大学病理生理学教研室 广西壮族自治区南宁市 530021
杨红, 彭金波, 覃肖溪, 广西医科大学第一附属医院影像科 广西壮族自治区南宁市 530021
张振华, 在读硕士, 主要从事癌干细胞的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81060202
作者贡献分布: 此课题由张振华与邝晓聪设计; 动物模型制作和射频消融手术由彭金波、杨红及覃肖溪共同完成; 病理学和凋亡实验由张振华与赵国志完成; 论文写作由张振华与邝晓聪完成.
通讯作者: 邝晓聪, 副教授, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路22号, 广西医科大学病理生理学教研室.
13617715826@139.com
收稿日期: 2013-03-27 修回日期: 2013-04-24
接受日期: 2013-04-27 在线出版日期: 2013-06-18

Pathological changes and cell apoptosis in rabbit VX2 liver tumors after radiofrequency ablation

Zhen-Hua Zhang, Xiao-Cong Kuang, Hong Yang, Jin-Bo Peng, Xiao-Xi Qin, Gou-Zhi Zhao

Zhen-Hua Zhang, Xiao-Cong Kuang, Gou-Zhi Zhao, Department of Pathophysiology Teaching and Research Section, Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Nationality Autonomous Region, China
Hong Yang, Jin-Bo Peng, Xiao-Xi Qin, Department of Imaging, the First Hospital Affiliated to the School of Medicine of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Nationality Autonomous Region, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81060202
Correspondence to: Xiao-Cong Kuang, Associate professor, Department of Pathophysiology, Guangxi Medical University, 22 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Nationality Autonomous Region, China. 13617715826@139.com
Received: 2013-03-27 Revised: 2013-04-24
Accepted: 2013-04-27 Published online: 2013-06-18

Abstract

AIM: To examine pathological changes and cell apoptosis in rabbit VX2 liver tumors after radiofrequency ablation (RFA) to provide a theoretical basis for clinical treatment of liver cancer by RFA.

METHODS: A rabbit model of VX2 liver tumors was induced by injection of VX2 carcinoma cell suspension, and hepatic VX2 tumors were then treated by radiofrequency ablation. After treatment, tissue samples were taken to examine pathological changes in tumor tissue by light microscopy after HE staining, and to detect apoptosis by TdT-mediated dUTP nick end labeling assay.

RESULTS: After RFA, tumor tissues surrounding the ablation electrode showed sequential changes of necrotis, mixed necrosis and apoptosis, and apoptosis. Inflammatory cell invasion occurred in the necrotic area and mixed necrotic and apoptotic area. Residual living tumor cells were visible in the mixed necrotic and apoptotic area. Hepatocytes surrounding tumor cells showed apoptosis and occasionally necrosis. Apoptosis was also visible in vascular endothelial cells in the central vein and portal area and epithelial cells in the intrahepatic bile duct.

CONCLUSION: Assessment of pathological changes and cell apoptosis in rabbit VX2 liver tumors after RFA provides a theoretical basis for clinical treatment of liver cancer by RFA.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Pathology; Cell apoptosis; Radiofrequency ablation; Rabbit VX2 liver tumors

Zhang ZH, Kuang XC, Yang H, Peng JB, Qin XX, Zhao GZ. Pathological changes and cell apoptosis in rabbit VX2 liver tumors after radiofrequency ablation. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(17): 1602-1606 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1602.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i17.1602

摘要

目的: 探索射频消融(radiofrequency ablation, RFA)干预下肝癌细胞凋亡及周围肝组织病理学变化规律, 为在临床治疗中实现病理性完全消融(pathological complete ablation, PCA)提供病理学基础.

方法: 采用肿瘤细胞悬液肝内注入法构建兔肝VX2肿瘤模型, 在直视定位下行肝VX2肿瘤单电极射频消融术, 由消融中心依次逐层取材, 采用HE染色观察肿瘤以及周围肝组织各个类型细胞的病理学变化, 同时应用末端脱氧

■同行评议者
程树群, 副教授, 中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院综合治疗三科

核苷酸转移酶介导的dUTP缺口末端标记(TdT mediated-dUTP nick end labeling)法检测各部位细胞凋亡情况.

结果: RFA术后, 以电极为中心的周围肿瘤组织依次出现凝固性坏死区、坏死与细胞凋亡混合区、细胞凋亡区. 其中凝固性坏死区、坏死与细胞凋亡混合区可见大量炎细胞浸润, 单纯细胞凋亡区未见炎性细胞浸润. 在坏死与细胞凋亡混合区、细胞凋亡区域可见残余存活的肝癌细胞; 在肿瘤周围的肝细胞有部分坏死肝细胞, 但以细胞凋亡为主, 中央静脉、汇管区血管内皮细胞以及肝内小胆管上皮可见部分肝细胞凋亡.

结论: 通过对兔肝脏VX2肿瘤射频消融后的病理表现, 为临床治疗中进一步提高射频消融清除癌灶的能力和效率提供理论基础.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 病理学; 细胞凋亡; 射频消融; 兔VX2肝肿瘤

核心提示: 在本研究中把射频消融(radiofrequency ablation)术后的肿瘤组织依次分为凝固性坏死区、坏死与细胞凋亡混合区、细胞凋亡区. 其中凝固性坏死区、坏死与细胞凋亡混合区可见大量炎细胞浸润, 单纯细胞凋亡区未见炎性细胞浸润. 在坏死与细胞凋亡混合区、细胞凋亡区域可见残余存活的肝癌细胞; 在肿瘤周围的肝细胞有部分坏死肝细胞, 但以细胞凋亡为主, 中心静脉、汇管区血管内皮细胞以及肝内小胆管上皮可见部分肝细胞凋亡.

张振华, 门晓聪, 杨红, 彭金波, 覃肖溪, 赵国志. 射频消融干预下兔VX2肿瘤病理学与凋亡的评估. 世界华人消化杂志 2013; 21(17): 1602-1606 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1602.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i17.1602

0 引言

射频消融(radiofrequency ablation, RFA)作为一种微创治疗方法, 在肝脏肿瘤治疗中日趋广泛, 尤其是在治疗无法手术切除的肝癌, 部分能够手术切除的小肝癌、早期肝癌等[1-3], 其基本原理是将电能转化成热能从而杀灭肿瘤细胞, 是一种局部肿瘤热疗方法. 目前临床RFA治疗后获得的通常只是影像学完全消融(imaging complete ablation, ICA), 影像学消融常常伴有肿瘤的残留, 因此肿瘤常出现复发与转移. 只有实现病理性完全消融(pathological complete ablation, PCA), 才能最大程度地减少肿瘤复发与转移, 这也是射频消融治疗的难题. 由于临床射频消融术后难以取材进行形态学观察, 因此, 本研究通过建立兔肝内VX2肿瘤模型, 并对其进行RFA干预处理, 观察肝肿瘤与肝组织细胞凋亡、坏死的病理学变化情况, 并进行区域划分, 进一步明确RFA治疗肝癌术后复发与转移的病理学机制, 为临床治疗中实现PCA提供理论基础.

1 材料和方法

1.1 材料 新西兰大白兔22只, 雌雄不限, 体质量2.5-3.5 kg, 3-4月龄, VX2瘤株与新西兰大白兔由中山大学中山医学院医学实验动物中心提供. RF-2000型射频治疗仪(美国); LOGIQ9型超声诊断仪(GE公司); 末端脱氧核苷酸转移酶介导的dUTP缺口末端标记(TdT mediated-dUTP nick end labeling, TUNEL)染色原位细胞凋亡检测试剂盒(美国Roche公司); 双目显微镜(OLYMPUS公司).

1.2 方法

1.2.1 VX2瘤株模型的制作: 将冰冻VX2癌细胞株常规细胞培养法复苏后, 接种于新西兰兔后腿肌肉或皮下, 制备成荷瘤种兔, 待瘤体长大后, 取生长旺盛的瘤体边缘组织, 制成组织块悬液, 在超声引导下将VX2瘤粒接种于已麻醉成功的实验兔肝脏内, 约14 d左右, B超检查证实瘤体生长到直径2 cm左右, 即可用于射频消融干预处理.

1.2.2 RFA干预处理: 实验动物术前12 h内禁食不禁水, 采用2%戊巴比妥钠(5.0 mL/kg)耳沿静脉注射麻醉, 采取腹正中切口开腹, 在直视下将射频治疗针单根电极插入肿瘤中心部位, 射频治疗参数: 能量由小到大序贯使用, 以功率10 W起, 以后每分钟升高10 W, 直至阻抗上升到顶部后停止消融.

1.2.3 取材: 治疗结束后, 实验动物采用耳缘静脉空气栓塞法处死, 切取消融肝脏组织, 由消融中心依次逐层取材, 并测量消融灶切面的直径大小.

1.2.4 兔肝组织HE染色: 切取的肝组织标本立即在10%甲醛固定液中固定, 固定后的组织经脱水、透明、包埋制成蜡块后, 切片, HE染色, 观察肿瘤以及周围肝组织各个类型细胞的病理学变化.

1.2.5 兔肝VX2肿瘤与肝组织细胞凋亡检测: TUNEL法检测细胞凋亡情况, 按Roche公司提供的原位细胞凋亡检测试剂盒操作, 以细胞核染成黄褐色为凋亡细胞.

2 结果

2.1 RFA术后兔肝内VX2肿瘤与肝大体变化 兔

■研发前沿
RFA技术在肝脏肿瘤治疗中日趋广泛, 尤其是在治疗无法手术切除的中晚期肝癌, 部分能够手术切除的小肝癌, 早期肝癌, 术后复发肝癌等. 但目前临床RFA治疗后获得的通常只是影像学完全消融(imaging complete ablation, ICA), ICA常常伴有肿瘤的残留, RFA治疗后存在一定的转移和复发, 如何提高射频消融治疗效率, 降低RFA治疗后的复发和转移率是目前的难题.

■相关报道
RFA治疗不可避免残留癌灶, 研究证明对于直径3-5 cm和直径>5 cm者, RFA后癌灶残留率分别为17.5%-38.7%和50.0%-76.1%. 对此, 很多学者把RFA后的病灶区分为针道碳化区、热凝固区、充血出血带区, 以更进一步明确消融治疗效果.

■创新盘点

由于临床RFA术后难以取材进行形态学观察，因此，本研究通过建立兔VX2肝癌动物模型，进行基础实验研究，把RFA治疗后以电极为中心的周围肿瘤组织依次分为凝固性坏死区、坏死与细胞凋亡混合区、细胞凋亡区，并详细描述各区域的病理表现与凋亡情况，为临床治疗中进一步提高RFA清除癌灶的能力和效率提供理论基础.

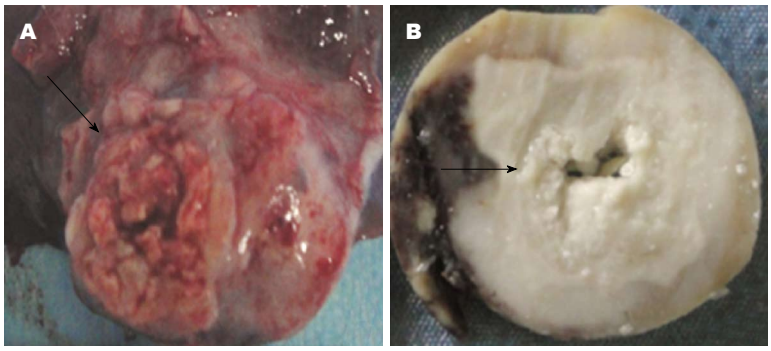


图 1 射频消融术后兔肝内VX2肿瘤与肝大体变化. A: 术后消融灶肿瘤与肝叶大体改变(箭头所示为消融针道); B: 取材可见瘤体凝固坏死区(箭头所示).

表 1 射频消融后兔肝VX2肿瘤病理学表现与细胞凋亡情况

区域	病理学改变与细胞凋亡
凝固性坏死区	射频消融中心区，组织黄染，细胞结构破坏，出现凝固性坏死，大量中性粒细胞、单核巨噬细胞浸润，充血、出血明显
坏死与细胞凋亡混合区	围绕消融中心区，可见灶性肿瘤细胞坏死，有中性粒细胞、单核–巨噬细胞等炎细胞浸润，固缩，而TUNEL染色则表现为细胞核染黄褐色，凋亡细胞周围则少见炎细胞，其间偶见存活的癌细胞
细胞凋亡区	位于射频消融区的外缘，与肝组织有混杂，出现大量的细胞核染黄褐色，凋亡细胞，包含癌细胞和肝细胞；未见炎细胞浸润；间杂存活肿瘤细胞
肝小叶	位于肿瘤周围的肝小叶出现肝细胞灶性和单个细胞死亡，表现为坏死或细胞凋亡，可见少量中性粒细胞、单核–巨噬细胞等炎性细胞浸润
中央静脉	中央静脉上皮细胞多见细胞凋亡
汇管区	可见小动脉充血，动脉与静脉内皮细胞以及肝内胆管上皮细胞凋亡

肝内VX2肿瘤是位于肝叶结节样包块，无包膜，呈鱼肉样，表面灰白色，质地偏硬，直径大小为2.5-3.5 cm，与周围肝组织分界清楚；RFA术后，以射频消融针为中心，依次出现灰白色、暗红色、红色等不规则环状分层区域性变化，其中心部位质地变脆，有一定硬度，为凝固性坏死，约3.5 cm，瘤体与周围组织分界依然清楚(图1)，有薄纤维膜形成.

2.2 RFA后兔肝内VX2肿瘤与肝组织形态学和细胞凋亡 兔肝内VX2肿瘤RFA后病理学表现：低倍镜下未见典型的肝索结构而出现聚集癌细胞群，细胞排列紊乱，但与周围肝组织分界较明显，高倍镜下可见体积较大的不规则形态肿瘤细胞，细胞核大，可见核分裂像，核浆比例大. RFA术后，以电极为中心的周围肿瘤组织依次出现凝固性坏死区、坏死与细胞凋亡混合区、细胞凋亡区，其中凝固性坏死区、坏死与细胞凋亡混合区可见大量炎细胞浸润，单纯细胞凋亡区则未见炎性细胞浸润，在坏死与细胞凋亡混合区、细胞凋亡区域则出现残余存活的肝癌细胞；在肿瘤周围的肝细胞有部分坏死肝细胞，但以细胞凋亡为主，中央静脉、汇管区血管内皮细胞以及肝内小胆管上皮可见凋亡(表1，图2).

■应用要点

本研究中，对RFA治疗后癌灶的区域划分和病理学描述，更进一步使人们树立完全消融理念，为今后临床治疗中进一步达到PCA提供理论基础. 提高RFA的疗效，最大程度降低RFA治疗后的复发与转移.

3 讨论

RFA可有效治疗肝脏肿瘤，也可联合手术进行治疗，拓宽肝癌治疗的适应证，是目前发展肝脏肿瘤非手术治疗新技术. 但临床的病例总结发现，由于肝肿瘤本身以及RFA治疗的方式不同，其复发率在1.2%-40.0%[4-9]间波动，与复发相关的因素众多，诸如肝肿瘤大小、位置、RFA治疗方式与治疗效果等，而本次动物实验研究则专注于RFA引发的肝肿瘤与肝组织基本改变，并进行区域划分，以此诠释其疗效的病理学基础.

RFA治疗后的病理形态学改变与其作用原理密切相关，主要通过电极发射中高频电磁波，引发电极周围细胞中极性分子产生高速共振，将电磁能转化为热能，使电极附近组织温度短时间内高达70 ℃-100 ℃，导致肿瘤组织发生凝固性坏死[10]. 由于热传导的衰减性，很多学者把RFA的区域分为针道碳化区、热凝固区、充血出血带区等3个区域，即：(1)针道碳化区域，针道周围组织呈炭化或汽化空泡改变；(2)热凝固区，主要为消融灶区，凝固苍白状；(3)充血出血带区，位于坏死组织周围的残存活体组织，表现为充血、出血、水肿和炎性细胞浸润也因此有研究相对应分为中心凝固坏死区、交界区、周边肿

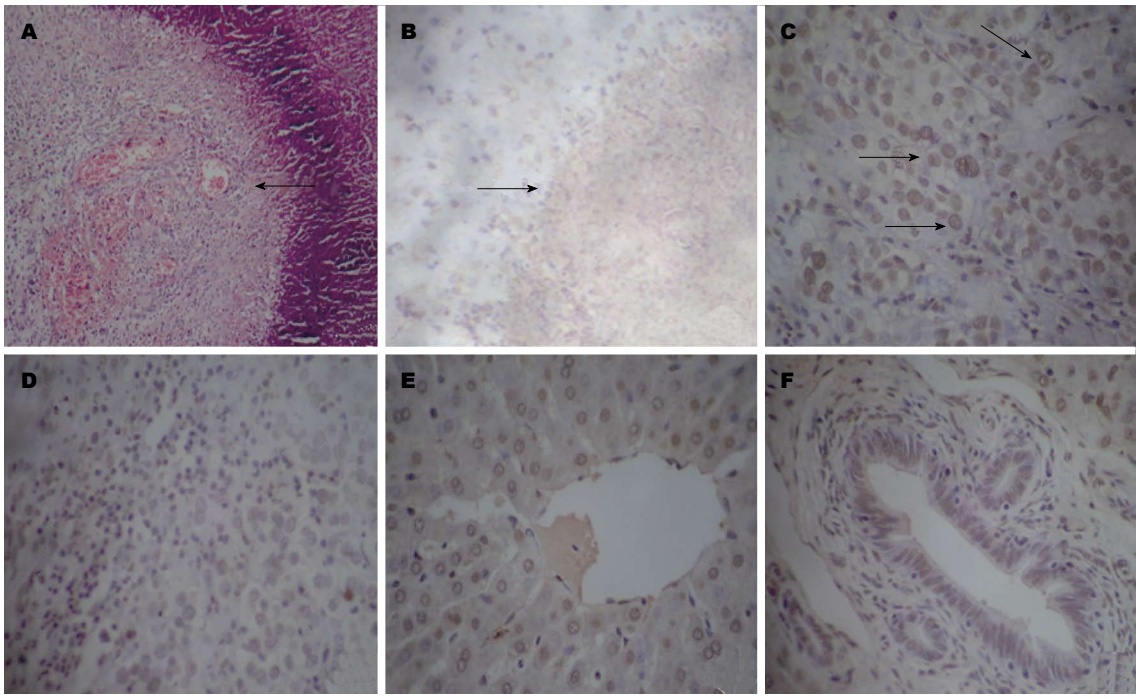


图 2 射频消融后兔肝VX2肿瘤病理学表现与细胞凋亡情况. A: 凝固性坏死区(箭头所示), 无细胞与组织结构, 黄染(HE × 40); B: 坏死与细胞凋亡混合区(箭头所示)(TUNEL × 40); C: 细胞凋亡区(箭头所示为凋亡细胞)(TUNEL × 400), 瘤体周围肝组织(TUNEL × 400); D: 肝小叶; E: 中央静脉; F: 汇管区.

■名词解释

射频消融: 一种肿瘤微创局部治疗方法, 主要通过电极发射中高频电磁波, 引发电极周围细胞中极性分子产生高速共振, 将电磁能转化为热能, 使电极附近组织温度短时间内高达70 ℃-100 ℃, 导致肿瘤组织发生凝固性坏死.

瘤残留区[11,12]. 本研究在HE染色的基础上, 联合细胞凋亡的观察, 则专注于病理学改变, 将其分为凝固性坏死区、坏死与细胞凋亡混合区、细胞凋亡区, 分析区域包含肝脏肿瘤与瘤体周围肝组织, 以获取更多的病理学信息. 本研究发现, 由于RFA的热效应在组织中的衰减, 距离电极近的肿瘤组织细胞多出现凝固性坏死, 而远离电极区域则出现细胞凋亡, 提示RFA的杀伤效应包括坏死与细胞凋亡, 这与王笛乐等[13]和Curley等[14]以及刘力等[15]研究的结果相同. 但本研究特别关注瘤体周围肝组织的病理学改变, 发现部分肝小叶中央静脉上皮细胞凋亡, 汇管区的动脉与静脉内皮细胞以及肝内胆管部分上皮细胞凋亡, 提示射频热效应已经波及瘤体周围肝组织. 尤其是发现血管内皮有部分细胞凋亡, 表明射频热效应可以通过损毁血管及其内皮细胞, 甚至包括瘤体周围的汇管区血管, 从而阻断肿瘤的血液供应, 还可能阻断肿瘤的转移途径. 但消融术的局限性导致术后残留癌的存在, 在本研究中发现坏死与细胞凋亡混合区以及细胞凋亡区中有残留存活的肿瘤细胞, 这可能与消融射频的热效应在组织中的衰减和组织类型差异性有关, 因此, 很难达到PCA也是肿瘤复发的重要生物学基础. 此外也有研究提出部分存活的肿瘤细胞实际为“鬼影细胞(ghost cell)”[16-18], 即在热凝固区的温度迅速升高, 细胞未发生自溶而被瞬间凝固, 组织细胞无活性, 但形态结构保存完好, 经HE染色后, 在形态上与存活细胞非常相似, 但经过数周后, 该类细胞就不存在了, 而本研究在非坏死区域的细胞凋亡区也发现了残留存活的肿瘤细胞, 并且在该区不存在凝固性坏死的作用条件, 因此可以明确其应该是存活的肿瘤细胞, 而非“鬼影细胞”, 加之该区域的细胞凋亡并未引起炎性细胞浸润, 也使之避免了肿瘤细胞遭受免疫细胞的攻击, 所以提示本研究在凋亡区中残存的肿瘤细胞很可能是引起复发的“种子”细胞. 上述现象在影像学上有时不显示, 属于癌周微静脉浸润(microvascular invasion, MVI)灶和卫星灶, 并且常呈不规则分布. 通过病理学可以对该区域进行划分, 为RFA治疗肝脏肿瘤术后复发与转移提供理论线索.

总之, 本研究是将RFA术后兔VX2肝脏肿瘤的HE染色联合细胞凋亡进行肝肿瘤RFA效应区域划分, 为今后临床治疗中进一步达到PCA提供理论基础.

4 参考文献

1 Hong K, Georgiades CS, Geschwind JF. Technology insight: Image-guided therapies for hepatocellular carcinoma--intra-arterial and ablative techniques. *Nat Clin Pract Oncol* 2006; 3: 315-324 [PMID:

■同行评议

本文为临床治疗中提高射频消融清除癌灶的能力和效率提供理论基础，结论可靠，对临床有一定指导意义.

16757969 DOI: 10.1038/ncponc0512]
2 Choi D, Lim HK, Rhim H, Kim YS, Lee WJ, Paik SW, Koh KC, Lee JH, Choi MS, Yoo BC. Percutaneous radiofrequency ablation for early-stage hepatocellular carcinoma as a first-line treatment: long-term results and prognostic factors in a large single-institution series. *Eur Radiol* 2007; 17: 684-692 [PMID: 17093964 DOI: 10.1007/s00330-006-0461-5]
3 陈敏山, 张耀军, 李锦清, 梁惠宏, 张亚奇, 林小军, 郑云, 徐立, 刘允怡. 射频消融治疗肝脏恶性肿瘤803例分析. 中华外科杂志 2007; 45: 1469-1471
4 Livraghi T, Goldberg SN, Lazzaroni S, Meloni F, Ierace T, Solbiati L, Gazelle GS. Hepatocellular carcinoma: radio-frequency ablation of medium and large lesions. *Radiology* 2000; 214: 761-768 [PMID: 10715043]
5 Scaife CL, Curley SA. Complication, local recurrence, and survival rates after radiofrequency ablation for hepatic malignancies. *Surg Oncol Clin N Am* 2003; 12: 243-255 [PMID: 12735142]
6 Yu HC, Cheng JS, Lai KH, Lin CP, Lo GH, Lin CK, Hsu PI, Chan HH, Lo CC, Tsai WL, Chen WC. Factors for early tumor recurrence of single small hepatocellular carcinoma after percutaneous radiofrequency ablation therapy. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 1439-1444 [PMID: 15770718]
7 Hori T, Nagata K, Hasuike S, Onaga M, Motoda M, Moriuchi A, Iwakiri H, Uto H, Kato J, Ido A, Hayashi K, Tsubouchi H. Risk factors for the local recurrence of hepatocellular carcinoma after a single session of percutaneous radiofrequency ablation. *J Gastroenterol* 2003; 38: 977-981 [PMID: 14614605 DOI: 10.3892/mmr_00000067]
8 Kosari K, Gomes M, Hunter D, Hess DJ, Greeno E, Sielaff TD. Local, intrahepatic, and systemic recurrence patterns after radiofrequency ablation of hepatic malignancies. *J Gastrointest Surg* 2002; 6: 255-263 [PMID: 11992812 DOI: org/10.1016/S1091-255X(02)00002-1]
9 van Duijnhoven FH, Jansen MC, Junggeburt JM, van Hillegersberg R, Rijken AM, van Coevorden F, van der Sijp JR, van Gulik TM, Slooter GD, Klaase JM, Putter H, Tollenaar RA. Factors influencing the local failure rate of radiofrequency ablation of colorectal liver metastases. *Ann Surg Oncol* 2006; 13: 651-658 [PMID: 16538411 DOI: 10.1245/ASO.2006.08.014]
10 倪雪君, 周国熊, 成建萍. 射频消融治疗肝癌机制的研究进展. 世界华人消化杂志 2008; 16: 3416-3420
11 Peng ZW, Chen MS, Liang HH, Gao HJ, Zhang YJ, Li JQ, Zhang YQ, Lau WY. A case-control study comparing percutaneous radiofrequency ablation alone or combined with transcatheter arterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma. *Eur J Surg Oncol* 2010; 36: 257-263 [PMID: 19643561 DOI: 10.1016/j.ejso]
12 杜端明, 邹英华, 刘鹏程, 陈俊辉, 邹立秋, 余宏建, 江锦赵, 阮继银. MRI评价兔VX2肝癌射频消融后改变: 与病理对照. 中国医学影像技术 2010; 26: 605-608
13 王笛乐, 沈世强, 章园. 射频消融对兔肝癌模型细胞凋亡的影响. 临床外科杂志 2004; 12: 147-149
14 Curley SA, Izzo F, Delrio P, Ellis LM, Granchi J, Vallone P, Fiore F, Pignata S, Daniele B, Cremona F. Radiofrequency ablation of unresectable primary and metastatic hepatic malignancies: results in 123 patients. *Ann Surg* 1999; 230: 1-8 [PMID: 10400029]
15 刘力, 隋秀芳, 叶显俊, 刘卫勇, 葛勇胜. 经皮射频消融治疗肝癌的疗效评估. 安徽医科大学学报 2012; 47: 1260-1262
16 Miao Y, Ni Y, Mulier S, Yu J, De Wever I, Penninckx F, Baert AL, Marchal G. Treatment of VX2 liver tumor in rabbits with "wet" electrode mediated radiofrequency ablation. *Eur Radiol* 2000; 10: 188-194 [PMID: 10663742]
17 Yu T, Fan X, Xiong S, Hu K, Wang Z. Microbubbles assist goat liver ablation by high intensity focused ultrasound. *Eur Radiol* 2006; 16: 1557-1563 [PMID: 16541226 DOI: 10.1007/s00330-006-0176-7]
18 Morimoto M, Sugimori K, Shirato K, Kokawa A, Tomita N, Saito T, Tanaka N, Nozawa A, Hara M, Sekihara H, Shimada H, Imada T, Tanaka K. Treatment of hepatocellular carcinoma with radiofrequency ablation: radiologic-histologic correlation during follow-up periods. *Hepatology* 2002; 35: 1467-1475 [PMID: 12029632 DOI: 10.1053/jhep.2002.33635]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2013年6月18日; 21(17): 1607-1615
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

ALT小于2倍正常上限的HBeAg+/–慢性HBV感染者肝脏病理及临床分析196例

耿晓霞, 林健梅, 杨兴祥, 黄仁刚, 江 南

耿晓霞, 林健梅, 杨兴祥, 黄仁刚, 江南, 四川省医学科学院•四川省人民医院感染科 四川省成都市 610072
耿晓霞, 硕士, 主治医师, 主要从事病毒性肝炎基础与临床研究.
中国肝炎防治基金会王宝恩肝纤维化研究基金资助项目, No. 2010-xjs001
作者贡献分布: 本文病例资料整理、分析及文章撰写由耿晓霞完成; 林健梅、杨兴祥及黄仁刚提供病例资料; 江南对文章进行审阅并提出修改意见.
通讯作者: 江南, 主任医师, 610072, 四川省成都市一环路西二段32号, 四川成都市四川省医学科学院•四川省人民医院感染科. jiangn-dr@163.com
电话: 028-87394030
收稿日期: 2013-03-19 修回日期: 2013-05-06
接受日期: 2013-05-12 在线出版日期: 2013-06-18

Liver histopathology and clinical manifestations between HBeAg-positive and -negative patients with chronic HBV infection and mildly elevated ALT level (less than two-time up limit of normal): An analysis of 196 cases

Xiao-Xia Geng, Jian-Mei Lin, Xing-Xiang Yang, Ren-Gang Huang, Nan Jiang

Xiao-Xia Geng, Jian-Mei Lin, Xing-Xiang Yang, Ren-Gang Huang, Nan Jiang, Department of Infectious Diseases, Sichuan Academy of Medical Sciences and Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610072, Sichuan Province, China
Correspondence to: Nan Jiang, Chief Physician, Department of Infectious Diseases, Sichuan Academy of Medical Sciences, Sichuan Provincial People's Hospital, 32 West Second Section First Ring Road, Chengdu 610072, Sichuan Province, China. jiangn-dr@163.com
Received: 2013-03-19 Revised: 2013-05-06
Accepted: 2013-05-12 Published online: 2013-06-18

Abstract

AIM: To compare hepatic histopathological changes and clinical features between HBeAg-positive and -negative patients with chronic hepatitis B virus (HBV) infection and mildly elevated alanine transaminase (ALT) level (less than two-time up limit of normal (ULN)), and to analyze factors affecting liver histology in the two groups.

METHODS: One hundred and ninety-six patients were divided into an HBeAg-positive group and an HBeAg-negative group based on the HBeAg status. The sex ratio, age, serum ALT level, HBV DNA, thickness of spleen, breadth of portal vein, liver stiffness measurement (LSM) detected by Fibroscan, grade of liver inflammation and stage of liver fibrosis were compared between the two groups. Subsequently, the above clinical indexes were assessed among patients with different hepatic histopathological changes.

RESULTS: There were 136 patients in the HBeAg-positive group. The grades of liver inflammation in this group were G1 and G2, and the stages of liver fibrosis were S0, S1 and S2. Seventy (51.5%) patients had G2 hepatitis and 14 (10.3%) patients had S2 fibrosis. There were 60 patients in the HBeAg-negative group. The grades of liver inflammation in this group were G1, G2 and G3, and the stages of liver fibrosis were S0, S1 and S2. Forty-nine (81.7%) patients had ≥ G2 hepatitis and 19 (31.7%) patients had S2 fibrosis. Compared to the HBeAg-positive group, the male patient's ratio, age, serum ALT level, HBV-DNA level, LSM index and degree of liver inflammation and fibrosis in the HBeAg-negative group were obviously increased. In the HBeAg-positive group, serum ALT level, thickness of spleen, breadth of portal vein and LSM index were obviously increased with the aggravation of liver inflammation, although there were no obvious changes in the sex ratio, age and HBV DNA level. With the aggravation of liver fibrosis, the thickness of spleen, breadth of portal vein and LSM index were obviously increased, while there were no obvious changes in the sex ratio, age, ALT and HBV DNA level. In the HBeAg-negative group, with the aggravation of liver inflammation and fibrosis, the male patient ratio, age, thickness of spleen, breadth of portal vein and LSM index were obviously increased; however, although ALT and HBV-DNA levels were markedly increased with the

■背景资料
目前国内外研究已证实, 在谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)<2×ULN的慢性乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染者中仍然有相当一部分患者存在显著的肝脏组织学改变, 仍然需要接受抗病毒治疗. 然而, 对于这部分患者在不同乙型肝炎E抗原(hepatitis E antigen, HBeAg)状态下, 其肝脏病理与临床特征以及肝脏病理相关临床指标的差异需进一步探讨, 从而为ALT<2×ULN的HBeAg+/-慢性HBV感染者抗病毒治疗方案的制定、时机的选择提供重要的临床线索及依据.

■同行评议者
杨江华, 副教授, 皖南医学院弋矶山医院感染科

■研发前沿
对于ALT<2×ULN的HBeAg+/-慢性HBV感染者，尤其是HBeAg阴性患者，探讨肝组织病理学与临床改变的相关性以及无创性诊断肝脏病理改变的指标是目前国内外学者研究的热点、难点.

aggravation of liver inflammation, there were no obvious changes in the two indexes with the aggravation of liver fibrosis.

CONCLUSION: In patients with chronic HBV infection whose ALT levels were < 2 × ULN, more severe liver histopathological changes were observed in HBeAg-negative patients than in HBeAg-positive ones. Serum ALT, thickness of spleen, breadth of portal vein and LSM index can imply liver histopathological changes. In HBeAg-negative patients with chronic HBV infection whose ALT level was < 2 × ULN, especially male patients, age and HBV DNA level are closely related to liver histopathological changes.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Chronic hepatitis B virus infectors; Alanine aminotransferase; HBeAg; Histopathology

Geng XX, Lin JM, Yang XX, Huang RG, Jiang N. Liver histopathology and clinical manifestations between HBeAg-positive and -negative patients with chronic HBV infection and mildly elevated ALT level (less than two-time up limit of normal): An analysis of 196 cases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(17): 1607-1615 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1607.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i17.1607

摘要

目的: 对比谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)<2倍正常值上限(upper limits of normal, ULN)的慢性乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染者中，乙型肝炎E抗原(hepatitis E antigen, HBeAg)阳性患者与HBeAg阴性患者肝组织病理学及临床改变的差异，并寻找这两部分患者中与肝组织学改变相关的因素.

方法: 将196例患者分为HBeAg阳性组与HBeAg阴性组，对比两组患者性别、年龄、血清ALT、HBV-DNA定量、脾脏厚度、门静脉内径、肝脏瞬时弹性探测仪(FibroScan)测定肝硬度值(liver stiffness measurement, LSM)及病理检测肝脏炎症活动度、纤维化程度的差异，并进一步分析这两部分患者中，不同肝脏病理改变时上述临床资料的变化.

结果: (1)HBeAg阳性患者为136例，肝脏炎症改变在G1-G2级，纤维化程度在S0-S2期，其中达G2、S2者分别为70例(51.5%)、14例(10.3%)；HBeAg阴性患者为60例，肝脏炎症改变在G1-G3级，纤维化程度在S0-S2期，其中≥G2、达S2者分别为49例(81.7%)、19例(31.7%). HBeAg阴性患者的男性患者比例、年龄、血清ALT、HBV-DNA定量、LSM值及肝脏病变程度均明显高于HBeAg阳性患者，差异有统计学意义；(2)在HBeAg阳性患者中，随着肝脏炎症程度的加重，血清ALT、脾脏厚度、门静脉内径、LSM值明显增加，而性别比例、年龄、HBV-DAN定量无明显变化；随着肝脏纤维化程度的加重，脾脏厚度、门静脉内径、LSM值明显增加，而性别比例、年龄、血清ALT、HBV-DAN定量无明显变化；(3)在HBeAg阴性患者中，随着肝脏炎症及纤维化程度的加重，男性患者比例、年龄、脾脏厚度、门静脉内径、LSM值均明显增加，且血清ALT水平、HBV-DNA定量随肝脏炎症程度的加重亦明显增加，差异均有统计学意义，但以上两指标随肝脏纤维化程度的加重无明显变化.

结论: 对于ALT<2×ULN的慢性HBV感染者，HBeAg阴性患者的肝脏病变明显重于HBeAg阳性患者，在这两部分患者中，密切随访血清ALT、脾脏厚度、门静脉内径、LSM测值，对于协助了解肝脏病理变化、决定抗病毒治疗时机有一定的提示作用；对于HBeAg阴性、ALT<2×ULN的慢性HBV感染者，尤其是男性患者，同时密切随访年龄、HBV-DNA水平，更有利于及时了解肝脏病理变化.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 慢性乙型肝炎病毒感染者; 丙氨酸氨基转移酶; 乙型肝炎E抗原; 组织病理学

核心提示: 对于ALT<2×ULN的慢性乙型肝炎病毒(hepatitis B virus)感染者，乙型肝炎E抗原(hepatitis E antigen, HBeAg)阴性患者与HBeAg阳性患者比较，具有年龄较大、病程较长、病毒复制较低但肝脏病理改变较重的特征，同时二者的肝脏病理改变相关临床指标亦有所不同；因此，结合患者的HBeAg状态进行分析更有利于确切评估病情，以便及时进行干预性治疗.

耿晓霞, 林健梅, 杨兴祥, 黄仁刚, 江南. ALT小于2倍正常上限的HBeAg+/-慢性HBV感染者肝脏病理及临床分析196例. 世界华人消化杂志 2013; 21(17): 1607-1615 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1607.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i17.1607

0 引言

目前大量研究已证实[1-4]，在谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)<2×ULN的慢性乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染者中仍然有相当

一部分患者存在显著的肝脏组织学改变. 然而, 对于这部分患者在不同乙型肝炎E抗原(hepatitis E antigen, HBeAg)状态下, 肝脏病理、临床特征有何差异及临床意义呢? 尤其对于HBeAg阳性或阴性患者的肝脏病理相关临床指标是否也有所不同, 从而在随访中各有不同侧重点呢? 为此, 我们对比分析了196例ALT<2×ULN的慢性HBV感染者在不同HBeAg状态下的肝脏病理及临床特征, 并进一步分别探讨了HBeAg阳性及阴性患者中年龄、性别、血清ALT、HBV DNA定量、超声改变情况、FibroScan测值与肝组织学改变的关系, 寻找ALT<2×ULN的慢性HBV感染者在不同HBeAg状态下与肝组织学改变相关临床因素的差异, 对于这部分患者抗病毒治疗方案的制定、时机的选择有重要的临床意义.

1 材料和方法

1.1 材料 选择四川省人民医院感染科2010-05/2012-05住院经肝穿刺活检的慢性HBV感染者, 共196例患者纳入分析, 诊断标准依据我国2010年修订的《慢性乙型肝炎防治指南》[5]. 患者行肝穿刺前未曾接受过抗病毒药物[核苷(酸)类似物或干扰素]治疗, 肝穿前6 mo内血清ALT持续低于2×ULN, 影像学检查无肝硬化及肝癌, 无丙型肝炎、戊型肝炎及艾滋病病毒合并感染, 无自身免疫性肝病, 无药物性肝炎、脂肪性肝病及长期酗酒史. 每例患者临床及生化、影像学资料均采集自肝穿刺前1 wk之内.

1.2 方法

1.2.1 肝脏病理学检查: 全部病例均无肝穿刺禁忌证. 首先行彩超定位确定穿刺深度, 局部麻醉后用美国巴德活检针MN1816获取肝组织, 长度均在1 cm以上, 包含4个及4个以上可供评价汇管区. 标本置于10%甲醛溶液固定, 石蜡包埋切片, 行HE、网状纤维染色. 由本院病理科医师读片, 病理学诊断按炎症活动度分级(G0-G4)、纤维化分期(S0-S4), 具体标准参照2000年修订的《病毒性肝炎防治方案》[6].

1.2.2 实验室检查: (1)血清ALT采用日本Olympus AU2700型全自动生化分析仪检测, 其正常值上限为40 IU/L; (2)乙型肝炎标志物采用ELISA检测(HAMILTON全自动酶免分析仪2420, 试剂购自北京万泰生物药业有限公司); (3)血清HBV DNA采用实时荧光定量PCR检测法(ABI 7500实时PCR定量检测仪, 试剂购自中山大学达安基因股份有限公司).

1.2.3 影像学检查: 全部病例肝活检前采用NEMIO30彩色多普勒超声仪检测脾厚度、门静脉内径.

1.2.4 肝脏弹性检测: 其具体的技术背景和操作流程见相关文献[7,8]. 所有患者经FibroScan (购自法国EchoSens公司)行肝硬度值(1iver stiffness measurement, LSM)检测. 连续10次成功采患者检测数据, 取中位数值为最终检测结果, 肝脏的硬度值以kPa表示, 检测成功率<60%为检测失败, 四分位数间距(inter-quartile range, IQR)大于或等于中位数值的30%, 代表LSM的测定值无效, 需排除.

统计学处理 采用SPSS15.0软件对研究数据进行统计学分析. 计量资料采用mean±SD表示, 正态分布的多组均数比较采用方差分析, 两组均数比较采用*t*检验; 血清HBV-DNA定量转化为其对数值进行比较; 计数资料用例数和百分比表示, 率和构成比的比较采用χ^2检验, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 HBeAg阳性与HBeAg阴性慢性HBV感染者基本情况、肝脏病理、彩超检测的比较

2.1.1 196例患者基本情况比较: 符合本研究纳入标准的患者共196例, HBeAg阳性患者136例(69.4%), HBeAg阴性患者60例(30.6%). 196例患者均以男性为主, HBeAg阴性组的男性患者比例明显多于HBeAg阳性组, 差异有统计学意义($P<0.01$); 196例患者年龄在18-59岁, HBeAg阳性组患者平均年龄明显小于HBeAg阴性组, 差异有统计学意义($P<0.01$); HBeAg阳性患者的平均血清ALT、LSM值明显低于HBeAg阴性患者, 但前者血清HBV-DNA定量却明显高于后者, 差异均有统计学意义($P<0.01$)(表1).

2.1.2 196例患者肝脏病理及彩超结果比较: 196例患者中, 肝组织均有不同程度炎症改变, HBeAg+/-组患者均以G2为主, HBeAg阴性组中有部分患者肝脏炎症达G3, HBeAg阳性、阴性组中达G2及以上患者分别为70例(51.5%)、49例(81.7%), 二组间总的炎症活动度比较差异有统计学意义($P<0.01$), HBeAg阳性组的炎症程度明显低于HBeAg阴性组.

196例患者中, 肝组织伴或不伴纤维化改变, 两组患者均以S1为主, 但仍有部分患者达S2改变, HBeAg阳性、阴性组达S2者分别占10.3%、31.7%, 前者的纤维化程度明显低于后者, 差异

■相关报道

秦恩强等研究发现, 我国血清ALT持续正常、HBeAg阴性慢性HBV感染者肝组织病理不存在真正的“非活动性”状态, 年龄20岁以上患者应密切随访, 及时进行肝活检, 并给予恰当的治疗; HBeAg阴性与HBeAg阳性慢性乙型肝炎患者在机体免疫状态、HBV致病力、肝脏损害等方面存在较大差异, 林国贤等研究报道除肝功能改变外, 患者年龄、血清HBV DNA载量可作为HBeAg阴性慢性乙型肝炎患者肝脏病变程度的有效预测指标.

■创新盘点

本文对比分析了ALT<2×ULN的HBeAg阴性和阳性慢性HBV感染者肝组织病理学及临床改变的差异, 并进一步探讨了这两部分患者中与肝组织学改变相关的临床因素, 对这两部分患者抗病毒治疗方案的制定、时机的选择有着重要的临床意义.

表 1 196例患者的基本情况比较

分组	*n*	男/女	年龄(岁)	ALT(U/L)	HBV-DNA(lg)	LSM值(kPa)
HBeAg+组	136	74/62	27.04±5.86	40.14±11.41	6.40±0.96	5.64±1.43
HBeAg-组	60	46/14	41.92±8.37	53.12±11.81	5.02±0.87	8.26±2.67
		χ^2 = 8.69	*t* = 12.49	*t* = 7.26	*t* = 9.53	*t* = 7.14
P		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

ALT: 谷丙转氨酶; LSM: 肝硬度值; HBV: 乙型肝炎病毒; HBeAg: 乙型肝炎E抗原.

表 2 196例患者的肝组织炎症活动度、纤维化程度、彩超检测比较

分组	*n*	炎症活动度*n*(%)			纤维化程度*n*(%)			脾脏厚度(cm)	门静脉内径(cm)
		G1	G2	G3	S0	S1	S2		
HBeAg+组	136	66	70	0	26	96	14	3.41±0.52	1.15±0.18
HBeAg-组	60	11	25	24	4	37	19	3.45±0.58	1.14±0.16
		χ^2 = 64.89			χ^2 = 16.00			*t* = 0.45	*t* = 0.46
P		<0.01			<0.01			>0.05	>0.05

HBeAg: 乙型肝炎E抗原.

表 3 HBeAg阳性患者不同肝组织炎症分级组的年龄、性别、ALT、HBV-DNA比较

炎症分级	*n*	男/女	年龄(岁)	ALT(U/L)	HBV-DNA(lg)
G1	66	32/34	26.06±4.34	37.70±10.77	6.42±1.05
G2	70	42/28	27.96±6.91	42.44±11.59	6.37±0.87
		χ^2 = 1.82	*t* = 1.93	*t* = 2.47	*t* = 0.32
P		>0.05	>0.05	<0.05	>0.05

ALT: 谷丙转氨酶; HBV: 乙型肝炎病毒; HBeAg: 乙型肝炎E抗原.

表 4 HBeAg阳性患者不同肝组织炎症分级组彩超及FibroScan检测的比较

炎症分级	*n*	脾脏脾厚(cm)	门静脉内径(cm)	LSM值(kPa)
G1	66	3.25±0.50	1.10±0.15	5.15±0.90
G2	70	3.57±0.50	1.20±0.19	6.10±1.67
t		3.73	3.37	4.20
P		<0.01	<0.01	<0.01

LSM: 肝硬度值; HBeAg: 乙型肝炎E抗原.

有统计学意义(*P*<0.01)(表2).

196例患者中肝脏彩超检测结果显示, 两组患者的脾脏厚度、门静脉内径均无明显差异(*P*>0.05)(表2).

2.2 HBeAg阳性慢性HBV感染者肝脏病理与患者基本情况、彩超检查的关系

2.2.1 HBeAg阳性慢性HBV感染者中不同肝组织炎症活动度患者基本情况的比较: HBeAg阳性患者共136例, 均有不同程度炎症改变, 炎症分级以G2为主, 达70例(51.5%), G1组患者以女性为主, G2组以男性为主, 二组患者年龄分布有随炎症分级增加而增大趋势, 但二者的性别比例、年龄比较差异均无统计学意义(*P*>0.05); 血清HBV-DNA水平的比较差异亦无统计学意义(*P*>0.05), 但两组的血清ALT值随肝脏炎症程度加重而显著升高, 差异有统计学意义(*P*<0.05)(表3).

表 5 HBeAg阳性患者不同肝组织炎症分级组的年龄、性别、ALT、HBV-DNA比较

纤维化分期	*n*	男/女	年龄(岁)	ALT(U/L)	HBV-DNA(lg)
S0	26	14/12	27.35 ± 3.17	36.69 ± 7.42	6.15 ± 0.97
S1	96	54/42	27.10 ± 6.36	40.65 ± 12.82	6.52 ± 0.91
S2	14	8/6	28.43 ± 6.94	43.00 ± 7.50	6.07 ± 1.21
		χ^2 = 0.89	*F* = 0.29	*F* = 1.68	*F* = 2.48
P		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

ALT: 谷丙转氨酶; HBV: 乙型肝炎病毒; HBeAg: 乙型肝炎E抗原.

表 6 HBeAg阳性患者不同肝组织纤维化分期组的彩超及FibroScan测值比较

纤维化分期	*n*	脾脏厚度(cm)	门静脉内径(cm)	LSM值(kPa)
S0	26	3.23 ± 0.56	1.08 ± 0.12	5.18 ± 0.68
S1	96	3.41 ± 0.48	1.15 ± 0.18	5.68 ± 1.52
S2	14	3.86 ± 0.71	1.24 ± 0.21	6.84 ± 2.22
F		6.68	4.01	5.96
P		<0.01	<0.05	<0.01

LSM: 肝硬度值; HBeAg: 乙型肝炎E抗原.

表 7 HBeAg阴性患者不同肝组织炎症分级组年龄、性别、ALT、HBV-DNA的比较

炎症分级	*n*	男/女	年龄(岁)	ALT(U/L)	HBV-DNA(lg)
G1	11	5/6	37.82 ± 5.17	45.73 ± 8.36	4.55 ± 0.69
G2	25	20/5	40.64 ± 9.13	52.24 ± 10.97	4.92 ± 0.86
G3	24	21/3	45.13 ± 7.77	57.42 ± 12.48	5.33 ± 0.87
		χ^2 = 7.72	*F* = 3.68	*F* = 4.23	*F* = 3.63
P		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

ALT: 谷丙转氨酶; HBV: 乙型肝炎病毒; HBeAg: 乙型肝炎E抗原.

2.2.2 HBeAg阳性慢性HBV感染者中不同肝组织炎症活动度患者彩超及FibroScan检测的比较: 136例HBeAg阳性患者中随炎症分级的增加, 脾脏厚度、门静脉内径值、LSM值均显著增加, 差异有统计学意义(均*P*<0.01)(表4).

2.2.3 HBeAg阳性慢性HBV感染者中不同肝组织纤维化程度患者基本情况的比较: 136例HBeAg阳性患者肝组织伴或不伴纤维化改变, 肝脏纤维化分期以S1为主(70.6%), 但仍有10.3%的患者达S2. 各纤维化分期组均以男性患者为主, 3组间性别比例、HBV-DNA差异无统计学意义(均*P*>0.05); 3组中患者的年龄、血清ALT有随纤维化分期的增加而增加趋势, 但总的差异无统计学意义(均*P*>0.05)(表5).

2.2.4 HBeAg阳性慢性HBV感染者中不同肝组织纤维化程度患者彩超及Fibroscan检测的比较: S0、S1、S2组中脾脏厚度、门静脉内径、LSM值均随纤维化程度加重而逐渐增加, 各指标总的差异有统计学意义(均*P*<0.05), 其中S2组与S0、S1组的脾脏厚度、LSM值分别比较差异有统计学意义(均*P*<0.05), 而S0组与S1组的脾脏厚度、LSM值比较差异无统计学意义(*P*>0.05); S0与S2组的门静脉内径差异有统计学意义(*P*<0.01), 而S0与S1、S1与S2组门静脉内径比较差异无统计学意义(均*P*>0.05)(表6).

2.3 HBeAg阴性慢性HBV感染者肝脏病理与患者基本情况、彩超检查的关系

2.3.1 HBeAg阴性慢性HBV感染者中不同肝组织炎症活动度患者基本情况的比较: HBeAg阴性患者共60例, 均有不同程度炎症改变, 炎症分级

■应用要点

对于ALT<2×ULN的慢性HBV感染者, HBeAg阴性患者的肝脏病变明显重于HBeAg阳性患者, 在这两部分患者中, 密切随访血清ALT、脾脏厚度、门静脉内径、LSM测值, 对于协助了解肝脏病理变化、决定抗病毒治疗时机有一定的提示作用; 对于HBeAg阴性、ALT<2×ULN的慢性HBV感染者, 尤其是男性患者, 同时密切关注随访年龄、HBV-DNA水平, 更有利于及时了解肝脏病理变化.

■同行评价
课题设计合理, 具有一定创新性, 数据较为可靠, 对临床具有一定指导意义.

表 8 HBeAg阴性患者不同肝组织炎症分级组彩超及FibroScan检测的比较

炎症分级	*n*	脾脏厚度(cm)	门静脉内径(cm)	LSM值(kPa)
G1	11	3.06 ± 0.33	1.02 ± 0.12	6.05 ± 0.75
G2	25	3.22 ± 0.47	1.13 ± 0.14	7.68 ± 2.80
G3	24	3.86 ± 0.54	1.20 ± 0.17	9.86 ± 2.14
F		15.50	6.16	11.50
P		<0.01	<0.01	<0.01

LSM: 肝硬度值; HBeAg: 乙型肝炎E抗原.

表 9 HBeAg阴性患者不同肝组织纤维化分期组年龄、性别、ALT、HBV-DNA的比较

纤维化分期	*n*	男/女	年龄(岁)	ALT(U/L)	HBV-DNA(lg)
S0	4	1/3	31.25 ± 9.11	52.50 ± 16.18	4.25 ± 0.50
S1	37	29/8	42.19 ± 8.11	52.78 ± 14.70	4.89 ± 0.97
S2	19	16/3	44.11 ± 7.15	55.21 ± 14.69	5.11 ± 1.15
		χ^2 = 6.63	*F* = 4.41	*F* = 0.18	*F* = 1.22
P		<0.05	<0.05	>0.05	>0.05

ALT: 谷丙转氨酶; HBV: 乙型肝炎病毒; HBeAg: 乙型肝炎E抗原.

表 10 HBeAg阴性患者不同肝组织纤维化分期组彩超及FibroScan测值比较

纤维化分期	*n*	脾脏厚度(cm)	门静脉内径(cm)	LSM值(kPa)
S0	4	2.90 ± 0.18	0.95 ± 0.10	5.40 ± 0.66
S1	37	3.36 ± 0.57	1.12 ± 0.14	7.78 ± 2.61
S2	19	3.85 ± 0.46	1.23 ± 0.16	9.79 ± 2.22
F		8.18	7.43	7.28
P		<0.01	<0.01	<0.01

LSM: 肝硬度值; HBeAg: 乙型肝炎E抗原.

以G2为主, 达25例(41.7%), 但有24例患者达G3水平(40%). G1组患者以女性为主, G2、G3组以男性为主, 3组患者的男性患者比例、年龄、血清ALT、HBV-DNA均随肝脏炎症程度的加重而增加, 差异均有统计学意义(*P*<0.05)(表7).

2.3.2 HBeAg阴性慢性HBV感染者中不同肝组织炎症活动度患者彩超及Fibroscan检测比较: 60例HBeAg阴性患者不同肝脏炎症分级组中, 脾脏厚度、门静脉内径、LSM值均随炎症程度的加重而明显增加, 各指标总的差异有统计学意义(*P*均<0.01), 其中G3组与G1、G2组的脾脏厚度、LSM值分别比较差异有统计学意义(均*P*<0.05), 而G1组与G2组的脾脏厚度、LSM值比较差异无统计学意义(*P*>0.05); G1组与G2、G3组的门静脉内径差异有统计学意义(均*P*<0.05), 而G2与G3组的门静脉内径比较差异无统计学意义(*P*>0.05)(表8).

2.3.3 HBeAg阴性慢性HBV感染者中不同肝组织纤维化程度患者基本情况的比较: 60例HBeAg阴性患者中大部分有肝脏纤维化改变, 纤维化分期以S1为主(61.7%), 但达S2者高达占31.7%. S0组以女性患者为主, S1、S2组均以男性患者为主, 3组间男性患者比例、年龄随纤维化分期的增加而明显增加, 差异有统计学意义(*P*均<0.05); S0、S1、S2组中患者的血清ALT、HBV-DNA有随纤维化分期的增加而增加趋势, 但3组间差异无统计学意义(均*P*>0.05)(表9).

2.3.4 HBeAg阴性慢性HBV感染者中不同肝组织纤维化程度患者彩超及FibroScan 检测的比较: 60例HBeAg阴性患者不同肝脏纤维化分期组

中, 脾脏厚度、门静脉内径、LSM值均随纤维化程度的加重而明显增加, 各指标总的差异有统计学意义(均P<0.01), 其中S2与S0、S1组的脾脏厚度、LSM值分别比较差异有统计学意义(均P<0.05), 而S0组与S1组的脾脏厚度、LSM值比较差异无统计学意义(P>0.05); 各组间门静脉值分别比较差异均有统计学意义(均P<0.01)(表10).

3 讨论

目前, 越来越多的研究[1-4]表明, ALT正常或轻度异常慢性HBV感染者的肝组织检查仍然可有显著的炎症病变及纤维化改变. 然而, ALT<2×ULN的慢性HBV感染者在不同HBeAg状态下, 肝脏病理与临床特征以及肝脏病理相关临床指标有何差异呢? 因此, 我们分析了196例ALT<2×ULN的慢性HBV感染者在不同HBeAg状态下与肝组织学改变相关的临床特征, 以期寻找这两部分患者中, 各自肝脏病理相关的临床随访指标, 从而有针对性、及时、准确地决定抗病毒治疗时机.

研究结果显示, 196例ALT<2×ULN的慢性HBV感染者中, 以HBeAg阳性患者为主, 占136例(69.4%), HBeAg阴性患者占60例(30.6%), 两组患者肝组织均有不同程度炎症改变, 伴或不伴纤维化改变. 其中, HBeAg阴性组有81.7%的患者肝脏炎症分级≥G2, 肝脏纤维化程度达S2期者占31.7%, 而HBeAg阳性组肝脏病理达G2、S2的患者分别占51.5%、10.3%, 因此, ALT<2×ULN的慢性HBV感染者中仍然有相当部分患者需要接受抗病毒治疗, 仅凭ALT决定是否抗病毒治疗将会遗漏部分已达G2或/和S2的患者, 肝组织活检才能更准确地了解肝脏病变严重程度, 以及时开始抗病毒治疗[9].

HBV感染的自然史可分为免疫耐受期、免疫清除期和非活动或低(非)复制期, 各期HBV复制和肝组织的病理损伤存在一定差别, 随着年龄增长, HBeAg阴性患者比例增多, 但HBV-DNA复制水平降低[10]. 我们对196例ALT<2×ULN的慢性HBV感染者的研究结果亦显示, HBeAg阴性患者的男性患者比例、年龄、血清ALT水平、LSM值、肝脏病变程度均明显高于HBeAg阳性患者, 但前者的HBV-DNA则明显小于后者. 这可能是由于在ALT<2×ULN的慢性HBV感染者当中, HBeAg阳性的患者较年轻, 多处于免疫清除前期, 而HBeAg是一种免疫调节因子, 可抑制细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)的细胞毒活性, 因此形成对HBV感染的免疫耐受, 从而不能有效清除病毒, 故HBV DNA定量较高, 但肝脏病变不重、ALT不高[11]; 而HBeAg阴性慢性HBV感染者患者年龄较大(平均年龄41.92岁±8.37岁), 病程较HBeAg阳性长, 由于HBV前C区G1896A或核心区启动子A1762T和G1764A突变等原因[12-14]导致机体经历HBeAg/抗HBe血清转换, 在此过程中免疫耐受状态被打破, 部分患者可能已进入免疫清除期, 病毒复制可能会反复激发机体的免疫, 造成肝脏病变加重及HBV DNA水平下降, ALT水平开始有一定波动, 但水平较低[15,16]. 因此, 对于HBV DNA(+)/HBeAg(-)慢性HBV感染者的应更积极动态监测病情演变, 必要时行肝穿活检, 并及时进行干预性治疗. 另外, HBeAg阴性组和阳性组患者的脾脏厚度、门静脉内径无明显差异, 可能与本研究纳入患者系血清ALT<2×ULN的慢性HBV感染者, 肝脏病变最严重也仅达G3、S2, 故影像学改变尚未形成明显差异.

以上研究结果提示对于ALT<2×ULN的慢性HBV感染者, HBeAg阴性患者与HBeAg阳性患者比较, 具有年龄较大、病程较长、病毒复制较低但肝脏病理改变较重的特征, 结合患者的HBeAg状态进行分析更有利于确切评估病情, 以便及时进行干预性治疗. 然而对于不同HBeAg状态、ALT<2×ULN的慢性HBV感染者, 肝脏病理相关临床指标有哪些呢? 临床上应如何进行有针对性的随访以早期、及时的启动抗乙肝病毒治疗呢? 为此我们进行了进一步的研究. 结果显示, 随着两组患者肝脏炎症、纤维化程度的加重, HBeAg阳性组患者的年龄、性别比例均无明显变化, 而HBeAg阴性组患者的年龄、男性患者比例明显增加, 提示年龄是ALT<2×ULN的HBeAg阴性慢性HBV感染者肝脏病变严重程度的危险因素[17], 这与多数学者研究结果一致[18]. 另有学者研究发现[19]对于ALT正常的HBeAg阴性慢性HBV感染者, 男性并不比女性更容易发生炎症和纤维, 这与我们的结果不一致, 可能与纳入研究患者的ALT水平、病程及年龄不同有关.

在196例ALT<2×ULN的HBeAg阴性或阳性慢性HBV感染者中, 均表现出随肝脏炎症程度的加重, ALT水平明显升高, 提示ALT与炎症病变有一定相关性, 无论HBeAg阴性或阳性的患者均可作为随访抗病毒治疗与否的指标之一. 但由于ALT未达抗病毒标准但部分患者肝脏仍

有隐匿进展表现[20-22], 故病理学依据仍然是决定是否抗病毒治疗的“金标准”. 这一现象可能由于ALT水平变化较快, 而肝组织炎性损害的进展或恢复相对缓慢, 导致具体时间点的ALT水平难以准确反映当时肝组织损害的程度.

进一步研究结果还显示, 随肝脏炎症、纤维化程度的加重, HBeAg阳性组患者的HBV-DNA定量无明显变化, 但HBeAg阴性组患者的HBV-DNA定量随肝脏炎症程度的加重明显增加. 这可能是由于HBeAg阳性慢性HBV感染者处于免疫清除前期, HBeAg的存在能引起免疫耐受, HBV DNA复制并不直接引起肝损伤[15]. 本研究中HBeAg阴性慢性HBV感染者血清HBV DNA定量随肝组织炎症分级的加重而增加, 提示对于HBeAg阴性慢性HBV感染者, 肝组织损伤机制除免疫攻击外, 可能存在HBV的直接参与[23,24]. 另外, 有学者研究认为在肝功能正常的慢性HBV感染者中, HBV DNA阳性和阴性两组的肝组织炎症分级和纤维化分期比较无差异[25], 与本研究结果不同, 可能与未将HBeAg阴性和阳性患者分开讨论有关. 因此, 对于ALT<2×ULN、HBeAg阴性的慢性HBV感染者, 密切随访ALT、HBV-DNA水平有助于判断肝脏病理改变情况[26]. 而在探讨慢性HBV感染者HBV DNA水平和肝脏病变之间的关系时, 按照不同HBeAg状态进行统计分析将更加合理, 结果会更加准确.

同时, 研究结果还显示, 随着这两部分患者肝脏炎症病变、纤维化程度逐渐增加, 超声测量脾脏厚度及门静脉内径均显著增加, 提示对于这部分患者, 定期检测脾脏厚度、门静脉内径对早期发现肝纤维化有重要参考价值[27-29].

FibroScan作为一种无创快速和可重复性的操作, 用来检测LSM以评估肝纤维化程度已被广泛应用于临床[30]. 我们在研究中发现, 随着两组患者肝脏纤维化及炎症程度的加重, LSM值明显增加, 但两组患者均表现出S0组与S1组的LSM值无显著差异, 而S2组的LSM值明显高于S0、S1组. 提示FibroScan能较好的区分S2期与S0、S1期的肝纤维化改变, 而对S0与S1期的变化未能显著区分, 因而FibroScan对于检测分级程度较高的肝纤维化准确性较好.

有研究表明, 当肝脏存在炎症或胆汁淤积时, LSM值明显上升[31]. 我们在研究中也发现, HBeAg阴性组与阳性组患者均表现出随肝脏炎症程度的加重, LSM值明显升高; 同时, HBeAg阴性组的LSM值明显高于HBeAg阳性组, 这可能与HBeAg阴性组的肝脏炎症及纤维化程度明显重于HBeAg阳性组有关. 另外, 研究还发现, 在相同肝纤维化分期情况下, HBeAg阴性组的LSM值却高于HBeAg阳性组, 这可能由于炎症分级不同而导致相同纤维化分期患者LSM值亦有所不同, 提示我们在分析LSM值时同样应结合HBeAg状态分别进行分析.

总之, 对于ALT<2×ULN的慢性HBV感染者, HBeAg阴性患者的肝脏病变明显重于HBeAg阳性患者, 在这两部分患者中, 密切随访血清ALT、脾脏厚度、门静脉内径、LSM值, 对于协助了解肝脏病理变化、决定抗病毒治疗时机有一定的提示作用; 另外, 与HBeAg阳性患者不同的是, 对于HBeAg阴性的ALT<2×ULN的慢性HBV感染者, 尤其是男性患者, 除上述指标外同时密切随访年龄、HBV-DNA水平, 更有利于及时了解肝脏病理变化.

4 参考文献

1 马丽娜, 何智敏, 曹振环, 张永宏, 陈新月. 乙型肝炎病毒携带者的肝脏病理学与临床特征. 中华肝脏病杂志 2010; 18: 433-436

2 Wang CC, Lim LY, Deubner H, Tapia K, Lau AW, Manansala J, Krows M, Shuhart MC, Kowdley KV. Factors predictive of significant hepatic fibrosis in adults with chronic hepatitis B and normal serum ALT. *J Clin Gastroenterol* 2008; 42: 820-826 [PMID: 18458642]

3 耿晓霞, 林健梅, 杨兴祥, 黄仁刚, 江南. 慢性HBV感染者肝脏病理及临床特征分析128例. 世界华人消化杂志 2009; 17: 2099-2104

4 耿晓霞, 林健梅, 杨兴祥, 黄仁刚, 江南. 慢性乙型肝炎病毒携带者和ALT轻度升高慢性乙型肝炎患者的肝脏病理及临床特征. 中华肝脏病杂志 2009; 17: 735-739

5 中华医学会肝病学分会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2010年版). 中华临床感染病杂志 2011; 4: 1-13

6 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案. 中华肝脏病杂志 2000; 8: 324-329

7 Saito H, Tada S, Nakamoto N, Kitamura K, Horikawa H, Kurita S, Saito Y, Iwai H, Ishii H. Efficacy of non-invasive elastometry on staging of hepatic fibrosis. *Hepatol Res* 2004; 29: 97-103 [PMID: 15163431 DOI: 10.1016/j.hepres]

8 Sandrin L, Fourquet B, Hasquenoph JM, Yon S, Fournier C, Mal F, Christidis C, Ziol M, Poulet B, Kazemi F, Beaugrand M, Palau R. Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis. *Ultrasound Med Biol* 2003; 29: 1705-1713 [PMID: 14698338]

9 谭友文, 史正全, 於学军, 杨丽君, 陈丽, 孙丽. 丙氨酸转氨酶正常的慢性乙型肝炎病毒感染者的肝脏病理学分析. 中华传染病杂志 2010; 28: 354-358

10 McMahon BJ. The natural history of chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology* 2009; 49: S45-S55

[PMID: 19399792 DOI: 10.1002/hep.22898]
11 林国贤, 黄庆华, 郭伯棋, 林玉英, 吴智宏, 邱荣仙, 何雄志, 叶向阳. HBeAg阳性与HBeAg阴性慢性乙型肝炎患者的临床和病理对照. 中华实验和临床感染病杂志 2010; 4: 27-32
12 Yuen MF, Yuan HJ, Wong DK, Yuen JC, Wong WM, Chan AO, Wong BC, Lai KC, Lai CL. Prognostic determinants for chronic hepatitis B in Asians: therapeutic implications. *Gut* 2005; 54: 1610-1614 [PMID: 15871997]
13 Rezende RE, Fonseca BA, Ramalho LN, Zucoloto S, Pinho JR, Bertolini DA, Martinelli AL. The precore mutation is associated with severity of liver damage in Brazilian patients with chronic hepatitis B. *J Clin Virol* 2005; 32: 53-59 [PMID: 15572007]
14 杨艳华, 谢青, 王晖周, 惠娟, 桂红莲, 蔡伟, 郭斯敏, 俞红, 郭清. 病毒学因素对ALT持续正常的e抗原阴性慢性乙型肝炎病毒感染者肝脏组织学改变的影响. 中华肝脏病杂志 2009; 17: 434-439
15 杨岩, 张小亚, 盛慧萍, 赖娅芳, 王国宁. HBeAg阳性/阴性慢性乙型肝炎患者血清HBV DNA与肝组织炎症的相关性. 宁夏医科大学学报 2011; 33: 525-527
16 张健珍, 张春兰, 易俊卿, 陈厚志, 姚细安, 林俐红, 谭奕洲. HBeAg阳性与HBeAg阴性慢性HBV携带者肝组织病理结果分析. 热带医学杂志 2010; 10: 822-826
17 付秀梅, 陈波, 李伍芽. HBeAg阴性慢性乙型肝炎生化、病毒学及病理特征 探讨. 实用临床医学 2009; 10: 3-5
18 杨艳华, 谢青, 桂红莲, 周惠娟, 王晖, 郭斯敏, 石翠翠, 蔡伟, 俞红, 郭清. 丙氨酸转氨酶持续正常的HBeAg阴性慢性乙型肝炎病毒感染者肝脏组织学改变及其影响因素. 中华传染病杂志 2008; 26: 719-724
19 秦恩强, 赵鹏, 张新伟, 王福生. 血清ALT持续正常及HBeAg阴性慢性HBV感染者86例肝脏病理特征分析. 临床内科杂志 2009; 16: 251-253
20 桂红莲, 俞红, 谢青, 王晖, 蔡伟, 林之莓, 姜山, 许蓓, 周霞秋, 郭清. 丙氨酸氨基转移酶持续正常的慢性乙型肝炎病毒感染者的肝脏组织学改变. 中华肝脏病杂志 2007; 15: 881-885
21 吴赤红, 斯崇文, 田庚善, 于岩岩, 徐小元, 王泰龄. 慢性乙型肝炎病毒携带者的病理与临床及预后分析. 中华肝脏病杂志 2007; 15: 577-581
22 Kumar M, Sarin SK, Hissar S, Pande C, Sakhuja P, Sharma BC, Chauhan R, Bose S. Virologic and histologic features of chronic hepatitis B virus-infected asymptomatic patients with persistently normal ALT. *Gastroenterology* 2008; 134: 1376-1384 [PMID: 18471514 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.02.075.]
23 吴丽萍, 张建军, 杜瑞清, 王艳, 王建彬. e抗原阴性和阳性慢性乙型肝炎患者血清HBV DNA定量与肝组织病理学关系. 肝脏 2009; 14: 113-115
24 陆传统, 周文红, 胡爱荣. HBeAg阴性慢性乙型肝炎患者血清病毒载量与肝组织学改变的关系. 中华实验和临床病毒学 2010; 24: 184-186
25 吴丽萍, 张建军, 杜瑞清, 王艳, 王建彬. 肝功能正常的慢性乙型肝炎病毒感染者血清HBeAg及HBV DNA与肝组织病理改变的关系. 肝脏 2009; 14: 269-271
26 朱雄鹰, 骆欣, 余吉仙, 陈公英. HBeAg阴性慢性乙型肝炎病毒感染者肝组织病理改变的相关因素分析. 中华传染病病杂志 2008; 26: 362-366
27 徐桂娟, 杨晴, 刘东屏, 陈阳. 超声量化指标对慢性肝炎肝纤维化的诊断价值研究. 中国全科医学 2011; 14: 687-689
28 杜瑞清, 马春华, 孝奇, 吴小霞. 乙型肝炎病毒感染者门静脉及脾静脉血流量与肝脏组织学变化的关系. 中国介入影像与治疗学 2008; 5: 374-377
29 温小凤, 蒋忠胜, 柯柳, 陈念, 覃川, 李敏基. 门静脉和肝中静脉内径与肝纤维化相关性的临床研究. 临床超声医学杂志 2008; 10: 673-675
30 Marcellin P, Ziol M, Bedossa P, Douvin C, Poupon R, de Lédinghen V, Beaugrand M. Non-invasive assessment of liver fibrosis by stiffness measurement in patients with chronic hepatitis B. *Liver Int* 2009; 29: 242-247 [PMID: 18637064 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2008.01802.x]
31 Wong GL, Wong VW, Choi PC, Chan AW, Chim AM, Yiu KK, Chan HY, Chan FK, Sung JJ, Chan HL. Clinical factors associated with liver stiffness in hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B patients. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7: 227-233 [PMID: 19121647 DOI: 10.1016/j.cgh.2008.10.023]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

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

• 消息 •

2012年度《世界华人消化杂志》发文情况

本刊讯 2012-01-01/2012-12-31,《世界华人消化杂志》共收到稿件1539篇, 退稿887篇, 退稿率57.63%, 发表文章652篇, 所有文章均经过编委专家同行评议. 其中, 发表述评34篇(5.21%), 基础研究94篇(14.42%), 临床研究61篇(9.36%), 焦点论坛20篇(3.07%), 文献综述114篇(17.48%), 研究快报86篇(13.19%), 临床经验222篇(34.05%), 病例报告21篇(3.22%); 文章作者分布遍及全国各地, 绝大多数来自高等院校及附属医院. 在此, 特别感谢为《世界华人消化杂志》进行同行评议的各位编委专家, 你们的同行评价对文章发表质量做出了重要贡献; 也希望各位编委踊跃为《世界华人消化杂志》继续撰写高质量的评论性文章, 为科学知识的传播做出贡献! (《世界华人消化杂志》编辑部)

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2013年6月18日; 21(17): 1616-1622
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

EB病毒与胃癌发生的研究进展

郭 欢, 王 涛, 苏海翔

郭欢, 王涛, 苏海翔, 甘肃省医学科学研究院 甘肃省兰州市 730000
郭欢, 主要从事细胞生物学的相关研究.
作者贡献分布: 郭欢完成论文写作; 王涛负责文献的查找; 苏海翔负责审校.
通讯作者: 苏海翔, 研究员, 730000, 甘肃省兰州市小西湖东街2号, 甘肃省医学科学研究院. haixiang01@yahoo.com
收稿日期: 2013-04-07 修回日期: 2013-04-29
接受日期: 2013-05-12 在线出版日期: 2013-06-18

■背景资料
近年来, 研究人员发现(Epstein-Barr, EB)病毒在胃癌的发生、发展过程中有着重要的作用. 据报道EB病毒相关胃癌(epstein-barr virus-associated gastric carcinoma, EBVaGC)全球发病率从1.3%至20.1%不等, 估计全球每年发病80000例, 在EBV相关的恶性肿瘤中所占比例最大.

Epstein-Barr virus and gastric cancer

Huan Guo, Tao Wang, Hai-Xiang Su

Huan Guo, Tao Wang, Hai-Xiang Su, Gansu Provincial Academic Institute for Medical Research, Lanzhou 730000, Gansu Province, China
Correspondence to: Hai-Xiang Su, Researcher, Gansu Provincial Academic Institute for Medical Research, 2 Xiaoxihu East Street, Lanzhou 730000, Gansu Province, China. haixiang01@yahoo.com
Received: 2013-04-07 Revised: 2013-04-29
Accepted: 2013-05-12 Published online: 2013-06-18

Abstract
Gastric cancer ranks second among malignancies in terms of global incidence. Epstein-Barrvirus (EBV)-associated gastric carcinoma (EBVaGC) is a recently recognized entity, which is defined by the presence of EBV in gastric carcinoma cells. EBVaGC represents about 10% of gastric carcinoma cases worldwide. It is estimated that there are over 80000 new EBVaGC cases in the world annually. EBVaGC shows some distinct clinical and pathological characteristics. The observation that EBV-encoded small RNA is expressed in cancer cells but not in surrounding normal epithelial cells strongly suggests that EBV plays an etiological role in gastric carcinogenesis. In this review, we discuss the relationship between EBV and gastric carcinogenesis.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Epstein-Barr virus; Gastric cancer, Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma

Guo H, Wang T, Su HX. Epstein-Barr virus and gastric cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(17): 1616-1622

URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1616.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i17.1616

摘要
全球恶性肿瘤发病率中胃癌居第2位, 近年来的研究不断证实Epstein-Barr(EB)病毒存在于胃癌细胞中, EB病毒相关胃癌(Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma, EBVaGC)逐渐被人们所了解和认知. 全球胃癌患者中平均有7.5%是EBVaGC, 预计每年有80000新增EBVaGC患者. EBVaGC具有自己独特的临床病理学特性, EB病毒编码的小RNA在肿瘤细胞中表达而不在正常上皮细胞中表达, 说明EB病毒在胃癌的发生中起着重要的作用. 本文对EB病毒及EBVaGC做一综述.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: Epstein–Barr病毒; 胃癌; Epstein–Barr病毒相关胃癌

核心提示: 目前Epstein-Barr(EB)病毒相关胃癌(Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma, EBVaGC)确切的发生、发展机制仍不清楚. EB病毒的感染引起基因启动子甲基化, 基因功能异常, 细胞的抗凋亡作用以及胃局部微环境的改变可能在其中发挥了重要的作用. 明确各种影响因素在其中的作用, 进而探索EBVaGC早期诊断及基因治疗的新方法, 是目前及今后相当长时间内的研究热点和重点.

郭欢, 王涛, 苏海翔. EB病毒与胃癌发生的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(17): 1616-1622 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1616.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i17.1616

0 引言
全球恶性肿瘤发病率中胃癌居第2位[1], 在我国恶性肿瘤中胃癌发病率和死亡率排名第3位[2]. 过去20年, 有关胃癌的分子致病机制研究等取得了很大进展. 2005年, Marshall等[3]因发现幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)与胃癌的关

■同行评议者
杜雅菊, 教授, 哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科; 傅春彬, 主任医师, 吉化集团公司总医院一院消化内科

系荣获诺贝尔医学奖. 近年来, 研究人员也发现Epstein-Barr(EB)病毒在胃癌的发生、发展过程中有着重要的作用.

1 EB病毒

1964年Epstein、Barr和Achong在BurKitt淋巴瘤细胞系观察到病毒颗粒, 命名为Epstein-Barr病毒[4]. EB病毒为人类疱疹病毒Ⅳ型(human herpes virus 4, HHV-4)病毒, 是一种嗜淋巴细胞病毒, 属双链DNA致瘤病毒, 双链约长172282 bp. EB病毒基因组编码至少60种病毒蛋白. 1990年Burke等[5]首次报告了EB病毒与胃癌发生相关. 之后, 众多学者运用PCR[6]、DNA原位杂交技术(DNA-ISH)[7]、EB病毒编码RNA的原位杂交技术[8](epstein-bar virus-encoded RNA in situ hybridization, EBER-ISH)等高敏感技术相继在淋巴上皮瘤样胃癌和其他类型胃癌细胞中检测出了EB病毒. EB病毒潜伏感染时RNA转录产生EB病毒编码的RNA(EBV-encoded RNA, EBER)EBER1和EBER2两类非翻译RNA, 此类RNA转录产量最多, 结构稳定, 不易被核酸酶降解, 因此, EBER-ISH是目前诊断EBVAGC中最可靠的技术手段[8].

EB病毒感染靶细胞有3种形式: 潜伏感染, 裂解性感染和缺损性感染. 感染后的靶细胞, 可在EB病毒作用下向永生化细胞转化. EB病毒核抗原(epstein-barr virus nuclear antigen, *EBNA*)基因家族、潜伏期膜蛋白(latent membrane protein, LMP)、主导蛋白(leading protein, *LP*)基因、终末蛋白(terminal protein, *TP*)基因是与EB病毒潜伏和靶细胞转化密切相关的重要基因. 大多数EB病毒感染者的病毒均处于潜伏感染状态, 被感染细胞中的病毒并不进行繁殖与复制, 当机体免疫防御功能降低时, 导致病毒繁殖表达. 通过基因体外重组, 已确定EB病毒的EBNA2、LMP1能使B淋巴细胞转化形成永生细胞系, 这可能就是EB病毒的癌源性所在[9].

2 与EB病毒相关的胃癌流行病学

1993年, Tokunaga等[10]定义了EBVaGC, 即在EB病毒感染的胃癌细胞内, EB病毒转录EBER1或EBER2 mRNA为阳性, 则称此类胃癌为EBVaGC, 其余为非EB病毒相关胃癌(non-Epstein-Barr Virus associated gastric carcinoma, non-EBVaGC). 全球EBVaGC的发生存在不平衡性, 有较为独特的流行病学趋势, 且影响因素较多.

EB病毒广泛分布于世界各地, 高于95%的健康成人携带该病毒. EBVaGC是一种临床病理及分子分型不同的胃癌, 报告的相关发病率从1.3%至20.1%不等, 估计全球每年发病80000例, 在EBV相关的恶性肿瘤中所占比例最大[11-13].

Li等[14]对包括美国、巴西、中国、伊朗、日本、哈萨克斯坦、马来西亚、韩国、墨西哥, 以及荷兰等10个国家的22篇论文中5475例病例进行Meta分析发现, EBVaGC患者411例, 平均发病率占胃癌患者的7.5%, 其中亚洲6.1%, 美洲9.4%, 欧洲9.1%. 拉丁美洲国家EBVaGC发病率分别为: 巴西11.3%[15], 哥伦比亚13%[16], 智利16.8%[17], 墨西哥7.3%[18]. 虽然检测到50岁以上的墨西哥人都有EB病毒感染, 但与其他拉美地区人群相比, 墨西哥EBVaGC发生率报道最低, 提示种族也是影响EBVaGC发生的因素之一.

环境因素与EBVaGC有一定关系[18], 生活在夏威夷的日裔人群患EBVaGC概率为10%, 患病率要明显高于日本当地人群(7%)[19]. 饮食习惯对EBVaGC的发生发展也有一定影响[20,21], 如高盐饮食. 化学损伤胃黏膜易诱发EBVaGC, 但饮酒导致non-EBVaGC可能性大于EBVaGC[22]. EBVaGC的发生发展与吸烟关系不大[18]. 遗传学差异与EBVaGC的发生也存在一定关系, 有研究显示HLA-DR11限制性CTL(细胞毒性T淋巴细胞, cytotoxic T lymphocyte, CTL)与EBVaGC相关, 缺失DR11以及高频重复的DR3可以作为筛查EBVaGC高风险人群的遗传学标志[23]. 也有报道微卫星多态性检测EBVaGC中*APC*、*TP53*、*DPC4*/*SMAD4*等位基因缺失低于non-EBVaGC[23].

性别和年龄因素可能也是影响EBVaGC不同组织型差异的因素[24], 男性EBVaGC发生率明显高于女性, Meta分析表明, 年轻男性更易患EBVaGC, 且为非胃窦组织弥散型胃癌[25]. 但墨西哥报道EBVaGC发生率男女性别比例无显著性差异[18,26]. 身体健康因素也会影响到EBVaGC的发生, 如恶性贫血性胃癌患者和非恶性贫血性胃癌患者相比, 前者(14.6%)EBVaGC比例大于后者(7.6%)[27].

3 与EB病毒相关的胃癌分子病理学

在病理组织学上, EBVaGC好发于贲门和胃体部, 而胃窦部发生较少, 这与non-EBVaGC好发于胃窦部有明显差别[26].

EB病毒感染使肿瘤相关基因表达异常, 微

■相关报道
Ryan等用反转录PCR证明EBVAGC中多种基因高甲基化, 严重影响了包括细胞周期调节(IGFBP3、CDKN2A、CCND1、HSP70、ID2、ID4), DNA损伤修复(BRCA1、TFF1), 细胞黏附(ICAM1), 炎症反应(COX2), 血管生成(HIF1-α)的相关细胞因子等的异常表达.

■同行评价
本文提出EB病毒感染与EBVaGC的发生密切相关的论断. 在检测方法上提出EB病毒潜伏感染时RNA转录产生EBER1和EBER2两类非翻译RNA, EBER原位杂交是目前诊断EBVAGC中最可靠的技术手段. 此观点较为新颖, 具有一定的研究价值.

环境改变, 乃至胃黏膜上皮细胞获得永生细胞周期和无限增殖能力. 日本胃癌研究协会将EBVaGC分为小肠型和弥漫型, 其中弥漫型多于小肠型. 组织学上常见中分化管状腺癌、低分化或未分化实体腺癌. 癌组织细胞有明显异型性, 并伴随病理性核分裂象. 免疫组织化学显示人胃黏液蛋白(human gastric mucin, HGM)、蛋白黏液素Muc2和普通急性淋巴母细胞性白血病抗原CD10为阳性, 上皮性标记低分子量角蛋白CK7、CKl8、CKl9常为弱阳性. EBVaGC中分离得到肿瘤浸润性淋巴细胞(tumour infiltrating lymphocytes, TILs), 其免疫型主要是HLA Ⅰ类分子限制性CD8(+)CTL(CTL)[28].

4 与EBVAGC机制的研究

EB病毒感染后, EB病毒编码的RNA直接激活生长因子类基因表达, 被激活的胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor-1, IGF-1)通过自分泌的方式促使肿瘤细胞的生长[29].

EBVaGC中多种肿瘤相关基因的启动子高甲基化, 高甲基化下调肿瘤相关基因的表达, 导致细胞因子等表达下调, 可能与EBVaGC的发生发展相关. 运用低密度微阵列法研究代表15个不同肿瘤相关信号转导途径的96个基因, EB病毒感染后一半基因被甲基化[30]. 反转录PCR证明多种基因高甲基化[30]严重影响包括细胞周期调节(IGFBP3、CDKN2A、CCND1、HSP70、ID2、ID4), DNA损伤修复 (BRCA1、TFF1), 细胞黏附(ICAM1), 炎症反应(COX2), 血管生成(HIF1-α)的相关细胞因子等的异常表达. EBVaGC或non-EBVaGC的发生可能还与p16、p14和APC启动子甲基化相关[31]. Hino等[32]的一项研究发现43%的EB病毒阳性胃癌PTEN表达缺失, 显著高于阴性者(10%), 而*PTEN*基因启动子甲基化亦多见于EB病毒阳性的胃癌, 并进一步证实EB病毒可通过其潜伏膜蛋白2A激活DNA甲基转移酶1, 进而引起*PTEN*启动子甲基化. EBVaGC中E-钙黏素基因启动子序列异常高甲基化[33], GSTP1启动子区域出现CpG甲基化等也都被学者们认为是EBVaGC发生的可能机制[34]. 部分基因去甲基化后细胞因子表达趋于正常, 这为EB病毒-相关肿瘤的治疗提供了新思路[24].

基因功能异常可能也是EBVaGC发生的可能机制. EB病毒感染可能通过引起抑癌基因脆性组氨酸三联体基因(fragile histitine triad, *FHIT*)基因异常, 其产物Fhit蛋白的缺失, 导致胃黏膜上皮细胞癌变[35]. EBVaGC组织中抑癌基因*p53*基因蛋白表达明显低于non-EBVaGC[36], 提示*p53*基因异常与EBVaGC可能相关. 临床病理学研究证明细胞周期调节因子、Wnt途径、NF-βB途径中缺失p21、大肠腺瘤样息肉基因(adenomatous polyosis coli, APC)可能与EBVaGC致癌作用相关[23,37].

EB病毒感染引起EBVaGC的另一个重要机制是抑制细胞凋亡, EBNA1可以抑制DNA损伤修复以及促进细胞存活, 通过调节凋亡相关癌基因和抑癌基因引发胃癌[38].

Seo通过构建EB病毒潜伏期膜蛋白2A(LMP2A)表达载体研究EB病毒相关基因与胃癌发生的相关性, 首先将LMP2A表达载体稳定转染入EB病毒阴性的胃癌细胞系AGS中, 构建成为稳定表达LMP2A的AGS-LMP2A细胞. 用细胞集落实验检测转染前后细胞系的生长状态并无明显变化, 证明当只有EB病毒相关基因*LMP2A*表达时对于EBVaGC肿瘤形成没有明显作用[39], 推测除LMP2A表达外, EBVaGC肿瘤发生可能还依赖于其他基因的协同作用.

Ueo等[40]报道2例贲门部伴发弥漫性大B细胞淋巴瘤和骨盆弥漫性大B细胞淋巴瘤接受化疗后伴发滤泡性淋巴瘤胃癌病例, 两例胃癌细胞EBER(+), 而周围非瘤性黏膜组织EBER(-), 推测EB病毒使胃淋巴瘤周围局部免疫功能受到抑制, 导致胃局部微环境改变. 在EBVaGC细胞中, FasL的高表达能降低肿瘤浸润性淋巴细胞凋亡率, 这可能是EBVaGC细胞逃离宿主免疫监视的原因[41]. 残胃癌中EBVaGC发生率大于未经手术切除的原始胃癌的EBVaGC发生率, 这可能是由于胃黏膜损伤导致残胃局部微环境改变, 提示EBVaGC的发生发展与胃局部微环境相关[42].

5 EB病毒与肿瘤细胞的抗化疗作用

虽然EB病毒与1.3%-20.1%的胃癌有关, 但目前对EB病毒感染造成的肿瘤细胞对化疗药物的抗药性了解还不够深入. 感染EB病毒的胃癌细胞可以通过调节凋亡相关基因及细胞存活相关基因的表达造成肿瘤细胞对化疗的抵抗.

细胞增殖实验、细胞周期分析、激活caspase的Western实验证明EB病毒阳性胃癌细胞系(AGS-EBV)能够抗多西他赛(docetaxel)的治疗[43]. 同样, EB病毒阳性胃癌细胞系AGS-EBV对5氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)的敏感性低于EB病毒阴性的AGS. AGS-EBV细胞中5-FU诱导的EB病毒裂

解基因*BZLF1*、*BRLF1*、*BMRF1*和*BHRF1*的表达以及5-FU激活的凋亡相关因子Caspase 3和聚ADP-核苷酸聚合酶(poly ADP-ribose polymerase, PARP)都低于AGS细胞, 提示感染EB病毒的胃癌细胞能够通过调节凋亡相关基因对化疗药物产生抵抗[44].

据报道感染EB病毒的细胞中病毒潜伏性膜蛋白2A(LMP2A)可激活磷脂酰肌醇3激酶/丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(PI3K)/AKT途径, 从而激活细胞存活信号通路并促发肿瘤的抗药性[45]. 用磷脂酰肌醇3激酶(PI3K)抑制剂LY294002和5-FU共同治疗EB病毒阳性胃癌细胞SNU-719, MTT检测细胞存活率降低, Western blot检测线粒体相关凋亡因子的表达增高、磷酸化蛋白激酶B(phosphor-protein kinase b, p-AKT)活性降低, 说明LY294002增强了5-FU的细胞毒性作用, 可以改善EBVAGC细胞的耐药性, 诱导线粒体依赖性凋亡[46], 感染EB病毒的胃癌细胞能够通过调节细胞存活相关基因产生抗化疗作用.

6 EB病毒与胃癌发生发展的研究中存在的问题

显然, EB病毒可能参与了胃癌的发生发展过程. 但是, 目前人类对EB病毒的生理特性以及致癌机理的了解还很有限.

关于EBVaGC与EB病毒的病原性联系, 普遍存在两种观点, 一种观点认为EB病毒感染发生在癌变之前, 并且在肿瘤的形成中起一定作用, 另一种观点认为EB病毒感染发生在癌变之后. 支持第一种观点的占多数, 持这一观点的人认为, 即使表面看来貌似“正常”的胃黏膜亦可能存在EB病毒感染. EBVaGC大部分癌细胞均被EB病毒感染, 说明EB病毒在胃癌发生发展中起重要作用, 但EB病毒感染的胃黏膜不一定都发生肿瘤, 可能存在着其他协同因素[24]. 在协同因素中研究较为深入的是: *H. pylori*.

*H. pylori*感染在EB病毒致胃癌的发生发展过程中具有协同作用, 有研究表明*H. pylori*感染后的胃黏膜往往进一步感染EB病毒并最终导致EBVaGC. 在2011年的一篇文献中[47], 用常规PCR和Q-PCR技术对胃癌、溃疡性胃炎和非溃疡性消化不良患者胃黏膜活检组织样本进行分析, 证明胃癌和溃疡性胃炎患者同时感染*H. pylori*和EB病毒的感染率远远高于非溃疡性消化不良患者, 说明EB病毒和HP感染与胃黏膜疾病的程度和进展有一定关系. 接着, 用Q-PCR实验检测*H. pylori*阳性的胃癌、溃疡性胃炎和非溃疡性消化不良患者胃黏膜活检组织样本中EB病毒DNA的复制量, 发现胃癌和溃疡性胃炎患者胃黏膜活检组织中EB病毒DNA的复制量高于非溃疡性消化不良患者. 说明EB病毒可能加速了与*H. pylori*相关的胃癌的发生与发展. 但是, 进一步的资料分析表明, *H. pylori*阳性的EBVaGC患者和*H. pylori*阴性的EBVaGC患者胃黏膜活检组织中EB病毒DNA的复制量并没有统计学差别[47], 不能说明*H. pylori*的感染和EB病毒相关的胃癌之间的关系. 所以, 目前还不能回答是*H. pylori*加强了EB病毒的致癌作用还是EB病毒加强了*H. pylori*的致癌作用的问题.

EB病毒感染与EBVaGC的发生密切相关. EB病毒相关抗体的检测已作为鼻咽癌辅助诊断及流行病学调查的指标, 但是人们对胃癌的EB病毒相关抗体的检测研究较少, 袁青等[48]用多参数综合预测的方法预测了EB病毒的B细胞表位为制备高效的鼻咽癌血清学诊断试剂和表位疫苗奠定了理论基础, 也为EBVaGC血清学诊断试剂和表位疫苗提供了理论基础. 但是目前对于B细胞表位预测的结果缺少标准的评估方法, 预测的准确性一般在40%[49]左右, 因此对EB病毒的B细胞表位进行初步筛选后, 最终还要合成肽段以免疫学实验进一步鉴定.

7 结论

EB病毒潜伏感染时RNA转录产生EBER1和EBER2两类非翻译RNA, 由于此类RNA转录产量多, 结构稳定, 不易被核酸酶降解, 因此, EBER原位杂交是目前诊断EBVAGC中最可靠的技术手段. EB病毒编码的小RNA1和小RNA2(*EBER1*和*EBER2*)基因被认为是保守的, 属type 1(B95-8)和type 2(AG876 or P3HR-1)EB病毒家族. 但由于对EBER多态性和EBVaGC关系缺乏深入的了解. 针对变体的抗体缺乏可能也是造成在EBVaGC诊断中假阴性结果的重要原因之一. 有关EBER多态性与EBVaGC的相关性研究应该引起更多的关注.

曾有研究证实EBVaGC胃癌预后效果要比non-EBVaGC预后效果好, 但是近期Song等[50]对韩国胃癌患者存活率研究报告中指出, 经过系列研究证明, 与其他胃癌患者相比EBVaGC胃癌患者存活率并没有显著优势. Lee等[13]用Meta分析法, 对7项相关研究进行分析, 认为EB病毒阳性与临床分期、肿瘤侵犯的深度、淋巴转移等临床病理学预后指标之间没有关系. Camargo等[25]

认为可能是由于研究过程中样本数有限或者某些其他原因导致部分研究人员持有EBVaGC胃癌预后效果要比non-EBVaGC预后效果好这一观点.

EBVAGC的发生机制仍然是个未解之谜. 随着基因工程学技术的发展, 要求我们不断探索、深入了解EB病毒的特性、EB病毒与胃癌的关系, 从EB病毒本身着手, 寻找治疗胃癌的新方法和新思路.

8 参考文献

1 Parkin DM. International variation. *Oncogene* 2004; 23: 6329-6340 [PMID: 15322508 DOI: 10.1038/sj.onc.12077261207726]

2 Yang L. Incidence and mortality of gastric cancer in China. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 17-20 [PMID: 16440411]

3 Marshall BJ, Windsor HM. The relation of Helicobacter pylori to gastric adenocarcinoma and lymphoma: pathophysiology, epidemiology, screening, clinical presentation, treatment, and prevention. *Med Clin North Am* 2005; 89: 313-344, viii [PMID: 15656929 DOI: 10.1016/j.mcna.2004.09.001]

4 Epstein MA, Barr YM, Achong BG. A second virus-carrying tissue culture strain (eb2) of lymphoblasts from burkitt's lymphoma. *Pathol Biol* (Paris) 1964; 12: 1233-1234 [PMID: 14255814]

5 Burke AP, Yen TS, Shekitka KM, Sobin LH. Lymphoepithelial carcinoma of the stomach with Epstein-Barr virus demonstrated by polymerase chain reaction. *Mod Pathol* 1990; 3: 377-380 [PMID: 2163534]

6 Herbst H, Niedobitek G, Kneba M, Hummel M, Finn T, Anagnostopoulos I, Bergholz M, Krieger G, Stein H. High incidence of Epstein-Barr virus genomes in Hodgkin's disease. *Am J Pathol* 1990; 137: 13-18 [PMID: 2164775]

7 Libetta CM, Pringle JH, Angel CA, Craft AW, Malcolm AJ, Lauder I. Demonstration of Epstein-Barr viral DNA in formalin-fixed, paraffin-embedded samples of Hodgkin's disease. *J Pathol* 1990; 161: 255-260 [PMID: 2167963 DOI: 10.1002/path.1711610313]

8 Hamilton-Dutoit SJ, Pallesen G. Detection of Epstein-Barr virus small RNAs in routine paraffin sections using non-isotopic RNA/RNA in situ hybridization. *Histopathology* 1994; 25: 101-111 [PMID: 7982672]

9 Zhang L, Liu H, Liu T, Cheng S. [Transformation of human bronchial epithelium by EB virus gene LMP1 and EBNA2]. *Zhonghua Binglixue Zazhi* 1999; 28: 277-280 [PMID: 11869538]

10 Tokunaga M, Land CE, Uemura Y, Tokudome T, Tanaka S, Sato E. Epstein-Barr virus in gastric carcinoma. *Am J Pathol* 1993; 143: 1250-1254 [PMID: 8238241]

11 Fukayama M. Epstein-Barr virus and gastric carcinoma. *Pathol Int* 2010; 60: 337-350 [PMID: 20518883 DOI: 10.1111/j.1440-1827.2010.02533.x]

12 van Beek J, zur Hausen A, Klein Kranenbarg E, van de Velde CJ, Middeldorp JM, van den Brule AJ, Meijer CJ, Bloemena E. EBV-positive gastric adenocarcinomas: a distinct clinicopathologic entity with a low frequency of lymph node involvement. *J Clin Oncol* 2004; 22: 664-670 [PMID: 14966089 DOI: 10.1200/JCO.2004.08.061]

13 Lee JH, Kim SH, Han SH, An JS, Lee ES, Kim YS. Clinicopathological and molecular characteristics of Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma: a meta-analysis. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 354-365 [PMID: 19335785 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2009.05775.x]

14 Li S, Du H, Wang Z, Zhou L, Zhao X, Zeng Y. Meta-analysis of the relationship between Epstein-Barr virus infection and clinicopathological features of patients with gastric carcinoma. *Sci China Life Sci* 2010; 53: 524-530 [PMID: 20596921 DOI: 10.1007/s11427-010-0082-8]

15 Lopes LF, Bacchi MM, Elgui-de-Oliveira D, Zanati SG, Alvarenga M, Bacchi CE. Epstein-Barr virus infection and gastric carcinoma in São Paulo State, Brazil. *Braz J Med Biol Res* 2004; 37: 1707-1712 [PMID: 15517087 DOI: S0100-879X2004001100016]

16 Carrascal E, Koriyama C, Akiba S, Tamayo O, Itoh T, Eizuru Y, Garcia F, Sera M, Carrasquilla G, Piazuelo MB, Florez L, Bravo JC. Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma in Cali, Colombia. *Oncol Rep* 2003; 10: 1059-1062 [PMID: 12792770]

17 Corvalan A, Koriyama C, Akiba S, Eizuru Y, Backhouse C, Palma M, Argandoña J, Tokunaga M. Epstein-Barr virus in gastric carcinoma is associated with location in the cardia and with a diffuse histology: a study in one area of Chile. *Int J Cancer* 2001; 94: 527-530 [PMID: 11745439 DOI: 10.1002/ijc.1510]

18 Herrera-Goepfert R, Akiba S, Koriyama C, Ding S, Reyes E, Itoh T, Minakami Y, Eizuru Y. Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma: Evidence of age-dependence among a Mexican population. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 6096-6103 [PMID: 16273633]

19 Shibata D, Hawes D, Stemmermann GN, Weiss LM. Epstein-Barr virus-associated gastric adenocarcinoma among Japanese Americans in Hawaii. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1993; 2: 213-217 [PMID: 8391356]

20 Alipov G, Nakayama T, Nakashima M, Wen CY, Niino D, Kondo H, Pruglo Y, Sekine I. Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma in Kazakhstan. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 27-30 [PMID: 15609391]

21 Koriyama C, Akiba S, Minakami Y, Eizuru Y. Environmental factors related to Epstein-Barr virus-associated gastric cancer in Japan. *J Exp Clin Cancer Res* 2005; 24: 547-553 [PMID: 16471317]

22 Kim RH, Chang MS, Kim HJ, Song KS, Kim YS, Choi BY, Kim WH. Medical history and lifestyle factors contributing to Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma and conventional gastric carcinoma in Korea. *Anticancer Res* 2010; 30: 2469-2475 [PMID: 20651410]

23 van Rees BP, Caspers E, zur Hausen A, van den Brule A, Drillenburg P, Weterman MA, Offerhaus GJ. Different pattern of allelic loss in Epstein-Barr virus-positive gastric cancer with emphasis on the p53 tumor suppressor pathway. *Am J Pathol* 2002; 161: 1207-1213 [PMID: 12368194 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)64397-0]

24 Truong CD, Feng W, Li W, Khoury T, Li Q, Alrawi S, Yu Y, Xie K, Yao J, Tan D. Characteristics of Epstein-Barr virus-associated gastric cancer: a study of 235 cases at a comprehensive cancer center in U.S.A. *J Exp Clin Cancer Res* 2009; 28: 14 [PMID: 19192297

DOI: 10.1186/1756-9966-28-14]
25 Camargo MC, Murphy G, Koriyama C, Pfeiffer RM, Kim WH, Herrera-Goepfert R, Corvalan AH, Carrascal E, Abdirad A, Anwar M, Hao Z, Kattoor J, Yoshiwara-Wakabayashi E, Eizuru Y, Rabkin CS, Akiba S. Determinants of Epstein-Barr virus-positive gastric cancer: an international pooled analysis. *Br J Cancer* 2011; 105: 38-43 [PMID: 21654677 DOI: 10.1038/bjc.2011.215]
26 Takahashi K, Otani Y, Ogawa N, Yasumoto A, Takeda A, Miyazawa M, Shinozuka N, Koyama I, Arai S, Ota S, Ban S. [A case of Epstein-Barr virus (EBV) associated remnant gastric carcinoma arising 7 years after distal gastrectomy for EBV associated gastric carcinoma]. *Nihon Shokakibyo Gakkai Zasshi* 2007; 104: 1728-1732 [PMID: 18057849 DOI: 10.11405/nisshoshi/104.1728]
27 Boysen T, Friborg J, Stribolt K, Hamilton-Dutoit S, Goertz S, Wohlfahrt J, Melbye M. Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma among patients with pernicious anemia. *Int J Cancer* 2011; 129: 2756-2760 [PMID: 21225628 DOI: 10.1002/ijc.25925]
28 Kuzushima K, Nakamura S, Nakamura T, Yamamura Y, Yokoyama N, Fujita M, Kiyono T, Tsurumi T. Increased frequency of antigen-specific CD8(+) cytotoxic T lymphocytes infiltrating an Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma. *J Clin Invest* 1999; 104: 163-171 [PMID: 10411545 DOI: 10.1172/JCI6062]
29 Iwakiri D, Eizuru Y, Tokunaga M, Takada K. Autocrine growth of Epstein-Barr virus-positive gastric carcinoma cells mediated by an Epstein-Barr virus-encoded small RNA. *Cancer Res* 2003; 63: 7062-7067 [PMID: 14612496]
30 Ryan JL, Jones RJ, Kenney SC, Rivenbark AG, Tang W, Knight ER, Coleman WB, Gulley ML. Epstein-Barr virus-specific methylation of human genes in gastric cancer cells. *Infect Agent Cancer* 2010; 5: 27 [PMID: 21194482 DOI: 10.1186/1750-9378-5-27]
31 Geddert H, zur Hausen A, Gabbert HE, Sarbia M. EBV-infection in cardiac and non-cardiac gastric adenocarcinomas is associated with promoter methylation of p16, p14 and APC, but not hMLH1. *Cell Oncol* (Dordr) 2011; 34: 209-214 [PMID: 21538028 DOI: 10.1007/s13402-011-0028-6]
32 Hino R, Uozaki H, Murakami N, Ushiku T, Shinozaki A, Ishikawa S, Morikawa T, Nakaya T, Sakatani T, Takada K, Fukayama M. Activation of DNA methyltransferase 1 by EBV latent membrane protein 2A leads to promoter hypermethylation of PTEN gene in gastric carcinoma. *Cancer Res* 2009; 69: 2766-2774 [PMID: 19339266 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-3070]
33 Etoh T, Kanai Y, Ushijima S, Nakagawa T, Nakanishi Y, Sasako M, Kitano S, Hirohashi S. Increased DNA methyltransferase 1 (DNMT1) protein expression correlates significantly with poorer tumor differentiation and frequent DNA hypermethylation of multiple CpG islands in gastric cancers. *Am J Pathol* 2004; 164: 689-699 [PMID: 14742272 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)63156-2]
34 Kim J, Lee HS, Bae SI, Lee YM, Kim WH. Silencing and CpG island methylation of GSTP1 is rare in ordinary gastric carcinomas but common in Epstein-Barr virus-associated gastric carcinomas. *Anticancer Res* 2005; 25: 4013-4019 [PMID: 16309193]
35 Xiao YP, Han CB, Mao XY, Li JY, Xu L, Ren CS, Xin Y. Relationship between abnormality of FHIT gene and EBV infection in gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 3212-3216 [PMID: 15929169]
36 Qian J, Li DQ, Zhong F, Li ZX, Lu LC. [Significance of the expression of P53 protein and P21WAF1 protein in the gastric carcinoma tissues associated with Epstein-Barr virus (EBV) infections]. *Zhonghua Shiyan He Linchuang Bingduxue Zazhi* 2006; 20: 1-3 [PMID: 16642206]
37 Kim B, Byun SJ, Kim YA, Kim JE, Lee BL, Kim WH, Chang MS. Cell cycle regulators, APC/beta-catenin, NF-kappaB and Epstein-Barr virus in gastric carcinomas. *Pathology* 2010; 42: 58-65 [PMID: 20025482 DOI: 10.3109/00313020903356392]
38 Sivachandran N, Dawson CW, Young LS, Liu FF, Middeldorp J, Frappier L. Contributions of the Epstein-Barr virus EBNA1 protein to gastric carcinoma. *J Virol* 2012; 86: 60-68 [PMID: 22013060 DOI: 10.1128/JVI.05623-11]
39 Seo JS, Jun SM, Kwon SW, Oh IH, Kim TG, Lee SK. Establishment and characterization of gastric carcinoma cell clones expressing LMP2A of Epstein-Barr virus. *Int J Mol Med* 2010; 25: 11-16 [PMID: 19956896]
40 Ueo T, Kashima K, Daa T, Kondo Y, Yokoyama S. Coexistence of Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma with malignant lymphoma: report of two cases. *Virchows Arch* 2006; 449: 215-219 [PMID: 16609909 DOI: 10.1007/s00428-006-0193-6]
41 He D, Xiao L, Chen JN, Liang Q, Shao CK. Correlation of Fas/FasL expression to cell apoptosis in Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma. *Chin J Cancer* 2010; 29: 283-287 [PMID: 20193111]
42 Chen JN, Jiang Y, Li HG, Ding YG, Fan XJ, Xiao L, Han J, Du H, Shao CK. Epstein-Barr virus genome polymorphisms of Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma in gastric remnant carcinoma in Guangzhou, southern China, an endemic area of nasopharyngeal carcinoma. *Virus Res* 2011; 160: 191-199 [PMID: 21723347 DOI: 10.1016/j.virusres.2011.06.011]
43 Shin HJ, Kim do N, Lee SK. Association between Epstein-Barr virus infection and chemoresistance to docetaxel in gastric carcinoma. *Mol Cells* 2011; 32: 173-179 [PMID: 21626300 DOI: 10.1007/s10059-011-0066-y]
44 Seo JS, Kim TG, Hong YS, Chen JY, Lee SK. Contribution of Epstein-Barr virus infection to chemoresistance of gastric carcinoma cells to 5-fluorouracil. *Arch Pharm Res* 2011; 34: 635-643 [PMID: 21544729 DOI: 10.1007/s12272-011-0414-7]
45 Portis T, Longnecker R. Epstein-Barr virus (EBV) LMP2A mediates B-lymphocyte survival through constitutive activation of the Ras/PI3K/Akt pathway. *Oncogene* 2004; 23: 8619-8628 [PMID: 15361852 DOI: 10.1038/sj.onc.1207905]
46 Shin JY, Kim JO, Lee SK, Chae HS, Kang JH. LY294002 may overcome 5-FU resistance via down-regulation of activated p-AKT in Epstein-Barr virus-positive gastric cancer cells. *BMC Cancer* 2010; 10: 425 [PMID: 20704765 DOI: 10.1186/1471-2407-10-425]
47 Shukla SK, Prasad KN, Tripathi A, Singh A, Saxena A, Ghoshal UC, Krishnani N, Husain N. Epstein-Barr virus DNA load and its association with Helicobacter pylori infection in gastroduodenal diseases. *Braz J Infect Dis* 2005; 15: 583-590 [PMID:

22218519 DOI: 10.1016/S1413-8670(11)70255-0]
48 袁青, 陈忠诚, 李朝霞, 陈馨. EB病毒LMP-1 BALF4及BARF1片段的B细胞表位预测. 中国卫生检验杂志 2012; 22: 1567-1570
49 Swets JA. Measuring the accuracy of diagnostic systems. *Science* 1988; 240: 1285-1293 [PMID: 3287615]
50 Song HJ, Srivastava A, Lee J, Kim YS, Kim KM, Ki Kang W, Kim M, Kim S, Park CK, Kim S. Host inflammatory response predicts survival of patients with Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma. *Gastroenterology* 2010; 139: 84-92. e2 [PMID: 20398662 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.04.002]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版)

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

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

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2013年6月18日; 21(17): 1623-1629
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

中药单体逆转肿瘤多药耐药的研究进展

王 炜, 黄赞松, 黄衍强, 周喜汉

王炜, 桂林医学院研究生学院 广西壮族自治区桂林市 541000
黄赞松, 周喜汉, 右江民族医学院消化疾病研究所 附属医院消化内科 广西壮族自治区百色市 533000
黄衍强, 右江民族医学院微生物学和免疫学教研室 广西壮族自治区百色市 533000
王炜, 在读硕士, 主要从事中药抗消化系肿瘤多药耐药的研究.
广西自然科学基金资助项目, No. 桂科自0542119
广西医疗卫生重点科研课题基金资助项目, No. 桂卫重2008 87
广西中医药管理局课题基金资助项目, No. 桂卫中gzzc0955
作者贡献分布: 本文综述由王炜完成; 黄赞松、黄衍强及周喜汉负责审校.
通讯作者: 黄赞松, 教授, 主任医师, 533000, 广西壮族自治区百色市城乡路98号, 右江民族医学院消化疾病研究所附属医院消化内科. huangzansong@hotmail.com
收稿日期: 2013-03-21 修回日期: 2013-05-07
接受日期: 2013-05-12 在线出版日期: 2013-06-18

Progress in research of Chinese herbal monomers reversing multidrug resistance of tumor cells

Wei Wang, Zan-Song Huang, Yan-Qiang Huang, Xi-Han Zhou

Wei Wang, Guilin Medical University, Guilin 541000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Zan-Song Huang, Xi-Han Zhou, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Youjiang Medical College for Nationalities, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Yan-Qiang Huang, Department of Microbiology and Immunology, Youjiang Medical College for Nationalities, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Supported by: the Natural Science Foundation of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. 0542119; the Major Medical Scientific Research Foundation of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. 200887; the Foundation of Administration of Traditional Chinese Medicine of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. gzzc0955
Correspondence to: Zan-Song Huang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Youjiang Medical College for Nationalities, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. huangzansong@hotmail.com
Received: 2013-03-21 Revised: 2013-05-07
Accepted: 2013-05-12 Published online: 2013-06-18

Abstract

Multidrug resistance (MDR) is one of the major causes of failure of clinical chemotherapy for tumors. Chinese herbal medicine that can reverse MDR has been intensely studied because of its low toxicity and high efficiency. In recent years, many Chinese herbal monomers have been found to be active in reversing MDR. In this review, we describe current progress in research of mechanisms of cancer cell MDR and Chinese herbal monomers reversing MDR.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Multidrug resistance; Tumor; Chinese medicine monomers; Reverse

Wang W, Huang ZS, Huang YQ, Zhou XH. Progress in research of Chinese herbal monomers reversing multidrug resistance of tumor cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(17): 1623-1629 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1623.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i17.1623

摘要

肿瘤多药耐药(multidrug resistance, MDR)是目前肿瘤临床化疗失败的主要原因之一, 中药因其低毒高效和多阶段性作用的优势已在肿瘤MDR逆转方法的研究中逐步受到重视. 目前已从多种中药中发现了具有逆转肿瘤MDR作用的中药单体成分. 本文对肿瘤MDR的形成机制及近年来中药单体在逆转肿瘤MDR领域的最新研究成果进行综述.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 肿瘤; 多药耐药; 中药单体; 逆转

核心提示: 本文对多药耐药(multidrug resistance, MDR)形成机制和中药单体在逆转肿瘤MDR方面的最新成果进行综述, 对肿瘤耐药的基础研究和中药MDR逆转剂的临床应用有一定价值.

王炜, 黄赞松, 黄衍强, 周喜汉. 中药单体逆转肿瘤多药耐药的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(17): 1623-1629 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1623.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i17.1623

0 引言

多药耐药(multidrug resistance, MDR)是指肿瘤

■背景资料
肿瘤多药耐药(multidrug resistance, MDR)是目前肿瘤临床化疗失败的主要原因之一, 中药因其低毒高效和多阶段性作用的优势已在肿瘤MDR逆转方法的研究中逐步受到重视.

■同行评议者
刘炳亚, 研究员, 上海交通大学医学院附属瑞金医院, 上海消化外科研究所; 周国雄, 主任医师, 南通大学附属医院消化内科

■创新盘点
本文对近年来在MDR形成机制和中药单体在逆转肿瘤MDR方面的最新成果进行综述，内容较为全面新颖.

细胞对一种抗肿瘤药物产生耐药性的同时，又对其他结构和作用机制完全不同的抗肿瘤药物也产生交叉耐药性的现象[1-3]. 肿瘤MDR已涉及临床多种常用的抗癌药物，是目前肿瘤临床化疗失败的主要原因之一. 中药在临床辅助肿瘤放化疗的过程中一直发挥着十分重要的作用，寻找低毒高效的中药肿瘤MDR逆转剂也已成为国内外众多学者的研究目标. 目前已从多种中药中发现了具有逆转肿瘤MDR作用的中药单体成分，本文就该领域的研究概况作一综述.

1 肿瘤MDR的形成机制

1.1 膜转运蛋白介导的肿瘤MDR 研究发现，MDR的出现与肿瘤细胞内化疗药物浓度达不到有效毒性作用浓度有关，提示药物转运的改变(外排增加)可能是产生耐药的原因. 膜转运蛋白ABC[4](adenosine triphosphate-binding cassette)的过度表达与肿瘤MDR的形成关系密切，与MDR有关的ABC家族有48个成员，其中以P-糖蛋白[5](P-glycoprotein, P-gp)、MDR相关蛋白家族[6](MDR-related protein, MRPs)和乳腺癌耐药蛋白[7](breast cancer resist ance protein, BCRP)最为重要. 另外还有一些膜转运蛋白如肺耐药蛋白[8](lung resistance protein, LRP)也与MDR的产生有一定关联.

1.1.1 P-gp: P-gp介导的MDR是目前研究最多，机制最为明确的MDR产生途径. P-gp是由*MDR*基因MDR1编码的一种跨膜糖蛋白[9]. P-gp分子上有2个ATP结合位点和2个跨膜结构域，他可以和抗肿瘤药物及疏水亲脂性化合物结合，通过ATP水解供能，逆浓度梯度将药物泵出细胞外，导致细胞内药物浓度降低[10]. 当P-gp高表达时一般会导致MDR的产生.

1.1.2 MRP: MRP的结构和功能与P-gp的类似，广泛分布于正常组织中但表达水平低，而在肿瘤组织中呈高水平表达[11]. MRP所介导的转运与P-gp无协同关系，往往需要谷胱甘肽(glutathione, GSH)的存在，他能识别和转运与GSH相耦合的底物(如长春新碱、顺铂等)[12]，从而引发细胞内药物浓度降低或分布改变，产生肿瘤MDR.

1.1.3 BCRP: BCRP属ABC超家族成员，1998年，BCRP由Doyle等[13]首先在人乳腺癌细胞株耐药细胞株MCF-7/AdrVp中发现. 他并非乳腺癌所特有，目前研究者已经在结肠癌、肺癌、胃癌、纤维肉瘤、宫颈癌等细胞耐药株中检测到BCRP的过表达[14]. BCRP蛋白分子上有6个跨膜区和1个ATP结合位点，同样以“药泵”形式减少胞内ATP依赖性药物积蓄而引发耐药. 大规模的病例分析显示，在BCRP高表达的临床患者的肿瘤组织中，P-gp的表达也相应较高，提示两者之间可能存在共表达，共同影响肿瘤细胞MDR的产生[15]. 最新研究发现BCRP在肿瘤干细胞中亦大量表达，对肿瘤细胞的分化和发育具有一定的保护作用[16].

1.1.4 LRP: LRP最早由Scheper等[17]从无P-gp过度表达的人非小细胞肺癌细胞MDR细胞系SW-1573/2R120中发现，其产生耐药性的机制与P-gp、MRP等ABC超家族成员有所不同. LRP主要分布在胞质及核膜，当化疗药物进入细胞后首先被吸收进LRP所构成的穹窿体蛋白中间的空洞里[18]，进而一方面可以发挥中间关卡的作用，阻止以胞核为靶点的药物(如顺铂、烷化剂等)通过核孔进入胞核，另一方面可通过囊泡转运和胞吐机制将胞质内药物排出细胞外，降低肿瘤细胞内药物的绝对浓度而产生耐药. 近期大量研究都证实除正常组织外，在结直肠癌、肾母细胞瘤、卵巢癌、胰腺癌等组织及多种具有化疗耐受性肿瘤细胞系中都有LRP的高表达[19-22].

1.2 酶介导的肿瘤MDR

1.2.1 谷胱甘肽-S-转移酶(glutathione-S-transferases, GSTs): GSTs是由多个基因编码的，由多种同工酶组成的超家族酶，其中以GSTs-π与肿瘤的关系最为密切，研究发现其水平升高是MDR产生的重要机制[23]. GSTs诱导MDR的产生机制主要表现为以下两点: (1)通过催化抗癌药物与GSH结合，促进药物的转化、代谢，减少药物对细胞的毒性作用; (2)可直接与药物结合降低药物活性并且通过非酶结合的方式消除自由基及过氧化物. 耿明等[24]收集81例手术切除胃癌标本，制备成单细胞悬液，分别加入羟基喜树碱、阿霉素、顺铂、5-氟尿嘧啶和丝裂霉素5种化疗药物培养48 h，并用MTT法检测胃癌细胞对各化疗药物的敏感性. 通过免疫组织化学技术检测到胃癌组织中GSTs-π的阳性率为65.33%，且GSTs-π在耐药组中的阳性率显著高于敏感组. Slattery等[25]也研究发现GSTs-π表达的高低与肿瘤耐药程度成正比.

1.2.2 拓扑异构酶Ⅱ(topoisomeraseⅡ, TopoⅡ): TopoⅡ是存在于细胞核内与细胞增殖密切相关的重要核酶，在DNA复制、转录及染色体分离等方面发挥着非常重要的作用. TopoⅡ是喜树

碱类、鬼臼毒素类及蒽环类等多种抗肿瘤药物的靶酶, 当胞内TopoⅡ表达量降低或酶活性减弱时, 使得化疗药物的作用靶点减少, DNA稳定断裂复合物的形成相应亦减少, 从而导致肿瘤细胞耐药性产生[26]. 研究发现, TopoⅡ介导的耐药发生时细胞内并无*mdr*基因的扩增和过量表达, 主要与TopoⅡ的磷酸化水平提高、TopoⅡ酶水平的降低和*TopoⅡ*基因的位点突变或缺失有关[27]. 夏薇等[28]研究盐酸千金藤碱对人乳腺上皮细胞癌耐药株MCF-7/ADM MDR的逆转作用, 并通过超螺旋PBR322 DNA的解旋能力来检测TopoⅡ的活性, 结果发现千金藤碱在逆转耐药株MDR的同时亦提高了TopoⅡ的催化活性, 提示TopoⅡ的表达与MDR的发生相关.

此外近年来研究发现肿瘤细胞内蛋白激酶C的激活[29], 葡萄糖神经酰胺合成酶[30]的含量变化以及端粒酶水平的升高[31]均与肿瘤MDR的形成存在一定关联.

1.3 凋亡调控基因介导的肿瘤MDR 通过诱导细胞凋亡杀伤肿瘤细胞是众多化疗药物发挥抗癌作用的共同机制, 肿瘤MDR的产生多与相应的凋亡调控基因表达失控而引发的凋亡受抑相关. 研究表明Bcl-2、突变p53、ras、c-fos、c-fun、TNF、NF-JB等细胞凋亡途径上的有关基因和因子都参与了肿瘤MDR的形成. 盖晓东等[32]用脂质体转染技术, 建立人肝癌细胞Bel-7402的野生型*p53*基因转染细胞株并对转染细胞株进行化疗药物敏感实验的研究, 结果发现野生型*p53*基因对肝癌细胞MDR有逆转作用. Roy等[33]发现HepG2耐药细胞株可表达一定水平的Bcl-2, 藻蓝蛋白可以增加耐药细胞株对阿霉素的敏感性, 使用其治疗后Bcl-2表达明显降低, 提示Bcl-2蛋白可能与肝癌MDR有关.

1.4 其他机制 肿瘤MDR性形成机制异常复杂, 是多基因, 多步骤综合作用的结果. 除了上述的各种机制外, 肿瘤MDR的产生还可能与DNA修复异常, 体内激素水平, 器官微环境以及微量元素水平等多种因素密切相关.

2 中药单体逆转肿瘤MDR的研究进展

2.1 苦参碱 苦参碱是从豆科槐属植物苦参的干燥根中提取的一种四环喹嗪啶生物碱, 目前越来越多的实验已经证实, 苦参碱具有明显的逆转肿瘤MDR的作用. 刘兆辉等[34]研究苦参碱对人膀胱癌MDR细胞株T24/ADM耐药性的逆转作用, 将非毒性浓度苦参碱按不同浓度分组加入到T24/ADM中, 用流式细胞术测定各组细胞的凋亡率和细胞中P-gp的表达变化, 结果发现苦参碱组的细胞凋亡率均高于对照组且P-gp的表达均明显降低, 表明苦参碱对T24/ADM细胞有一定的耐药逆转作用. 吴迪炯等[35]将苦参碱作用于急性早幼粒细胞白血病全反式维甲酸耐药细胞株NB4-R1, 用NBT还原实验分析苦参碱对耐药细胞分化能力的影响并观察细胞形态的变化, 用流式细胞术检测细胞凋亡, 结果发现NB4-R1的分化能力随苦参碱作用浓度的增大而增强且其细胞凋亡率亦相应提高, 最终得出苦参碱能有效逆转NB4-R1细胞对全反式维甲酸耐药的结论. 孙付军等[36]建立小鼠S180肿瘤细胞MDR模型, 用苦参碱口服给药4 wk后, 通过流式细胞术检测小鼠瘤体中*MDR*基因表达产物P170、肺耐药蛋白LRP的含量及拓扑异构酶Ⅱ的活性, 结果发现P170、LRP的表达率和TopoⅡ的活性均有一定程度的降低. 胥雄阳等[37]观察低毒剂量的苦参碱对肝癌耐药细胞QGY/CDDP的作用, 通过MTT法检测苦参碱对细胞的半数抑制浓度, 观察苦参碱作用后的QGY/CDDP细胞对CDDP、MMC、5-FU、VCR、MTX 5种常用化疗药物耐药性的变化, 检测苦参碱作用后细胞内CDDP含量并应用免疫细胞化学法测定细胞内P-gp、MRP、Bax蛋白的表达, 最后发现苦参碱作用后的QGY/CDDP细胞对5种化疗药物的耐药性均有不同程度的逆转, 细胞内的P-gp、MRP蛋白表达降低, Bax蛋白的表达增加, 同时细胞内CDDP含量也明显增加. 这些实验结果都证明了苦参碱对人肝癌耐药细胞QGY/CDDP MDR的逆转作用.

2.2 姜黄素 姜黄素是从姜科植物姜黄中提取的一种色素, 具有抗炎、抗凝血、抗氧化、降血脂、抗病毒等广泛的药理作用. 近来有研究报道姜黄素具有抗肿瘤的作用且可以影响肿瘤细胞的MDR. 曹仕琼等[38]用姜黄素作用于人肝癌耐药细胞株Bel7402/5-FU, 探讨对其MDR的逆转作用及机制. 采用MTT法检测Bel7402及其耐药细胞株对6种化疗药物以及姜黄素的敏感性, 采用Western blot法检测Bel7402细胞、Bel7402/5-FU细胞及经过不同浓度姜黄素作用后的细胞中MRP1、LRP、P-gp、程序化死亡因子5(programmed cell death 5 protein, PDCD5)蛋白的表达水平. 结果发现Bel7402/5-FU细胞对6种化疗药物表现出交叉耐药性, 其中对5-FU耐药指数最高; 与Bel7402细胞相比, Bel7402/5-FU细胞中

■应用要点
本文对了解中药单体逆转肿瘤MDR的最新研究进展, 改善逆转肿瘤MDR实验方法及中药逆转剂的开发和应用均有一定的参考价值.

■同行评价
本文在复习MDR分子机制的基础上, 介绍了中药单体在抗MDR中的最新研究成果, 对肿瘤耐药基础研究和中药MDR逆转剂的临床应用有一定价值.

的MRP1、LRP、P-gp蛋白表达升高, PDCD5蛋白表达降低, 随姜黄素浓度的升高, Bel7402/5-FU细胞中MRP1、LRP、P-gp蛋白表达逐渐降低, PDCD5蛋白表达逐渐增高. 最终得出姜黄素具有逆转肝癌细胞MDR的作用, 可能与其下调MDR相关蛋白MRP1、LRP、P-gp, 上调凋亡相关蛋白PDCD5表达有关的结论. 卢伟东等[39]将人结肠癌耐长春新碱细胞株HCT-8/VCR种植于裸鼠皮下, 建立肿瘤耐药模型. 将移植瘤裸鼠依据治疗方法的不同分为对照组(PBS)、长春新碱(VCR)组、姜黄素组、姜黄素联合VCR组, 治疗2 wk后称量各组瘤体质量, 采用RT-PCR、Western blot分别检测瘤组织内MDR1 mRNA、survivin mRNA和P-gp、survivin蛋白的表达水平, HE染色观察瘤组织细胞形态学变化, 以此评估姜黄素在不同处理因素中逆转肿瘤MDR的效果. 结果发现姜黄素联合VCR组、姜黄素组的瘤体质量及MDR1 mRNA、survivin mRNA和P-gp、survivin蛋白的表达都明显低于对照组. HE病理切片也显示姜黄素组和姜黄素联合VCR组较其他两组有较多的淋巴细胞浸润, 核固缩较多, 核分裂相少, 坏死更为广泛. 这些都提示姜黄素具有逆转人结肠癌细胞MDR的功效. Andjelkovic等[40]用姜黄素作用于人非小细胞肺癌耐药细胞株NCI-H460/R, 发现姜黄素一方面通过下调细胞中的Topo Ⅱ和GST含量以影响与MDR密切相关的酶系统, 另一方面通过增加*p53*等凋亡相关基因的表达来提高细胞凋亡率, 从多种途径实现其对MDR的逆转.

2.3 青蒿素 青蒿素是从中药黄花蒿中提取的一种有效成分, 作为我国自主研制的抗疟药在临床上广泛应用. 近来研究发现青蒿素对多种肿瘤细胞有杀伤作用, 在肿瘤MDR逆转方面亦可发挥一定功效. 余和平等[41]探讨青蒿素在逆转乳腺癌MDR中的应用, 采用MTT法观察青蒿素联合阿霉素(adriamycin, ADR)对乳腺癌耐药株MCF-7/ADR细胞生长增殖的影响, 应用流式细胞术测定青蒿素联合ADR对MCF-7/ADR细胞中P-糖蛋白表达的影响. 结果发现青蒿素可以增强ADR对肿瘤细胞的敏感性, 10、20、40 μmol/L青蒿素实验组的细胞耐药逆转倍数分别为1.53、1.90和3.62倍. 且经青蒿素作用后, MCF-7/ADR细胞膜P-gp的表达明显降低, P-gp表达阳性率与青蒿素作用浓度呈反比. 陈卫强等[42]研究双氢青蒿素和顺铂在体外对人肺腺癌A549细胞系亲代及耐顺铂细胞系A549/CDDP的作用. 将A549/CDDP细胞分为顺铂单药作用组, 联合作用组及序贯治疗组, 采用细胞计数法绘制亲代细胞和耐药细胞生长曲线, 采用MTT法分析计算IC_{50}值并进行比较. 结果发现对A549/CDDP细胞, 联合治疗100 nmol/L双氢青蒿素组, 顺铂IC_{50}值为2.225 μg/mL(逆转倍数2.56), 320 nmol/L双氢青蒿素组, 顺铂IC_{50}值0.464 μg/mL(逆转倍数12.29). 对A549/CDDP细胞青蒿素序贯治疗组(100 nmol/L双氢青蒿素预处理)顺铂IC_{50}为2.523 μg/mL(逆转倍数2.26), 最终得出双氢青蒿素、顺铂联合用药和序贯治疗均可逆转A549/CDDP细胞对顺铂的耐药.

2.4 川芎嗪 川芎嗪是中药川芎的有效成分之一, 属酰胺类生物碱, 具有扩张冠脉、降低心肌耗氧量、保护心肌缺血损伤等作用, 临床主要用于心脑血管疾病的治疗. 由于他还具有钙通道阻滞活性, 因此常被作为肿瘤MDR的逆转剂. 余绪明等[43]研究川芎嗪对人肝癌耐药细胞BEL-7402/ADM中P-gp表达的影响, 用流式细胞仪检测各组P-gp荧光强度, 用免疫组织化学SABC法检测各组P-gp的表达, 结果均发现P-gp的表达在耐药组显著高于亲本组, 经过川芎嗪作用后耐药组细胞中P-gp的表达明显降低. 刘明华等[44]通过建立人卵巢癌顺铂耐药细胞株COC1/DDP, 探讨川芎嗪对COC1/DDP顺铂耐药性的逆转作用及其机制. 用CCK-8(cell counting kit-8)检测川芎嗪对COC1/DDP细胞顺铂耐药性的逆转作用; 用GSH和GSSG试剂盒检测细胞内GSH的水平; 用高效液相色谱测定细胞内顺铂的含量. 最终建立了在1.0 μg/mL DDP作用下生长良好的耐药细胞株COC1/DDP且对卡铂、长春新碱和阿霉素有不同程度的交叉耐药性, 同时发现0.25 mg/mL的川芎嗪对COC1/DDP的顺铂耐药性有逆转作用, 逆转倍数达到3.76倍. 与COC1细胞相比, COC1/DDP细胞内GSH水平增高, 顺铂含量下降, 但经川芎嗪干预后, COC1/DDP胞内的GSH水平降低, 顺铂的含量也相应增加. 最终得出了川芎嗪对COC1/DDP的顺铂耐药性有逆转作用, 其机制可能与干预COC1/DDP细胞内GSH/GST-P解毒系统, 增加细胞内顺铂的含量有关的结论.

2.5 大黄素 大黄素是中药大黄的主要有效单体, 属蒽醌类化合物, 具有多种药理作用, 近来研究表明其也有抑制肿瘤生长、促进肿瘤细胞凋亡及逆转肿瘤MDR的作用. 周颉等[45]探讨大黄素对乳腺癌MCF-7/Adr细胞株MDR的逆转作用及

对细胞中ERCC1蛋白表达的影响, 采用MTT法进行药敏试验, 采用蛋白质印迹法检测ERCC1蛋白的表达. 实验发现MCF-7/Adr对多柔比星和顺铂的耐药倍数分别为21倍和11倍, 在加入10 μg/mL大黄素后, 耐药逆转倍数分别为2.86和1.79. 10和20 μg/mL大黄素处理MCF-7/Adr后第2、4、6、10天, ERCC1蛋白的表达呈逐渐下降趋势且在20 μg/mL浓度时下降相对明显. 秦春明等[46]研究大黄素对人卵巢癌耐药细胞株SKOV3/DDP耐药的逆转作用及其机制. 通过MTT法测定细胞株的耐药指数和大黄素在无细胞毒浓度下对卵巢癌细胞耐受顺铂(cisplatin, DDP)的逆转作用, 采用RT-PCR检测耐药相关因子和酶*HIF-1α*、*STAT1*、*CK2α*、*GSTP1*基因的表达情况. 结果发现无细胞毒作用浓度的大黄素能逆转SKOV3/DDP细胞对顺铂的耐药性, 对DDP的逆转倍数分别为1.91倍和1.30倍. 与SKOV3相比, SKOV3/DDP细胞的4种耐药相关基因表达明显. 大黄素联合IC_{50}浓度的DDP时, 4种耐药相关基因的表达与单独化疗药组作用相比明显下调. 最终得出无细胞毒浓度的大黄素对卵巢癌细胞耐药性的逆转可能是通过下调HIF-1α、STAT1、GSTP1、CK2α的表达发挥作用.

2.6 *粉防己碱* 粉防己碱是中药防己科千金藤属植物粉防己块根中提取分离的一种双苄基异喹啉类生物碱. 粉防己碱目前已被很多体外实验证实具有逆转肿瘤MDR的作用. 刘风玲等[47]探讨粉防己碱对人卵巢癌耐药细胞株SKOV3/DDP耐药的逆转作用及机制. 结果发现, 粉防己碱2 μmol/L联合DDP后, DDPSKOV3/DDP细胞的IC_{50}从6.24 μg/mL降为3.89 μg/mL, 逆转倍速约为1.60; 细胞内MDR-1 mRNA表达随粉防己碱作用时间延长呈下降趋势. 实验得出无毒剂量的粉防己碱能部分逆转SKOV3/DDP细胞的耐药性, 其逆转机制可能与下调MDR-1 mRNA表达有关的结论. 隋在云等[48]观察粉防己碱对化疗诱导的小鼠MDRS180肿瘤细胞MDR的影响. 采用低于治疗剂量的联合化疗药造模, 同时给予粉防己碱4 wk, 流式细胞荧光检测P170、Fas和细胞凋亡表达率. 结果发现粉防己碱可以明显减少耐药肿瘤细胞的mdr-1表达产物P170, 增加凋亡基因*Fas*表达率和细胞凋亡率. 由此推测粉防己碱可通过对肿瘤细胞凋亡的调节, 干预化疗诱发的肿瘤细胞MDR的产生.

此外其他研究表明榄香烯[49]、柴胡皂苷[50]、甲基莲心碱[51]、番荔枝内酯[52]、槲皮素[53]、丹参酮[54]、大蒜辣素[55]等中药单体均对肿瘤MDR有一定的逆转效果.

3 结论

肿瘤MDR形成机制异常复杂, 与膜转运蛋白、酶、细胞凋亡、器官微环境等多种因素密切相关, 是多基因、多步骤综合作用的结果. 肿瘤MDR已涉及临床多种常用的抗癌药物, 是目前肿瘤临床化疗失败的主要原因之一. 寻找低毒、高效、高选择性的MDR逆转剂一直是国内外众多学者的研究目标. 中药具有多靶点、多阶段性作用特点, 可以针对肿瘤MDR的多种机制进行有效的逆转. 近年来大量实验都证实多种中药单体可以通过降低膜转运蛋白, 诱导肿瘤细胞凋亡等方式实现对肿瘤MDR的逆转. 这些都充分展示了中药MDR逆转剂的巨大优势. 但目前中药逆转肿瘤MDR的研究依然存在着一定的问题急需解决: (1)此类研究多是以耐药细胞株为研究对象的体外实验, 而在体实验乃至临床研究依然少见; (2)此类研究多侧重于中药单体且研究重点往往只局限于某个单一靶点, 往往忽略了其他作用机制的影响; (3)对中药逆转剂作用机制的研究相对单一, 大多只研究经典机制, 无法全面深入的阐明逆转机理. 中药复方是中医临床辨证论治思想的主要应用形式, 是目前临床应用及新药开发研究的主流药物. 在今后的科学研究中应当更加侧重从中药复方中筛选理想的肿瘤MDR逆转剂, 更好地发挥中药抗肿瘤治疗的优势作用. 此外对于中药逆转剂的剂量, 需进一步通过毒理实验进行验证, 在结合动物实验, 临床资料的基础上, 确定出最为安全可靠的逆转剂量. 相信随着MDR的机制的逐渐明确及更多低毒、高效、高选择性的中药逆转剂的开发和应用, 肿瘤的临床治疗一定能够取得更加突破性的进展.

4 参考文献

1 Takara K, Sakaeda T, Okumura K. An update on overcoming MDR1-mediated multidrug resistance in cancer chemotherapy. *Curr Pharm Des* 2006; 12: 273-286 [PMID: 16454744 DOI: 10.2174/138161206775201965]
2 Beck WT. The cell biology of multiple drug resistance. *Biochem Pharmacol* 1987; 36: 2879-2887 [PMID: 2888464 DOI: 10.1016/S0928-0987(00)00114-7]
3 Krishna R, Mayer LD. Multidrug resistance (MDR) in cancer. Mechanisms, reversal using modulators of MDR and the role of MDR modulators in influencing the pharmacokinetics of anticancer drugs. *Eur J Pharm Sci* 2000; 11: 265-283 [PMID: 11033070]

4 van den Heuvel-Eibrink MM, Sonneveld P, Pieters R. The prognostic significance of membrane transport-associated multidrug resistance (MDR) proteins in leukemia. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2000; 38: 94-110 [PMID: 10739113]

5 Thomas H, Coley HM. Overcoming multidrug resistance in cancer: an update on the clinical strategy of inhibiting p-glycoprotein. *Cancer Control* 2003; 10: 159-165 [PMID: 12712010]

6 Cole SP, Deeley RG. Multidrug resistance-associated protein: sequence correction. *Science* 1993; 260: 879 [PMID: 8098549 DOI: 10.1126/science.8098549]

7 Ee PL, He X, Ross DD, Beck WT. Modulation of breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) gene expression using RNA interference. *Mol Cancer Ther* 2004; 3: 1577-1583 [PMID: 15634651]

8 Kawabata S, Oka M, Shiozawa K, Tsukamoto K, Nakatomi K, Soda H, Fukuda M, Ikegami Y, Sugahara K, Yamada Y, Kamihira S, Doyle LA, Ross DD, Kohno S. Breast cancer resistance protein directly confers SN-38 resistance of lung cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 280: 1216-1223 [PMID: 11162657 DOI: 10.1006/bbrc.2001.4267]

9 Haus-Cohen M, Assaraf YG, Binyamin L, Benhar I, Reiter Y. Disruption of P-glycoprotein anticancer drug efflux activity by a small recombinant single-chain Fv antibody fragment targeted to an extracellular epitope. *Int J Cancer* 2004; 109: 750-758 [PMID: 14999785 DOI: 10.1002/ijc.20037]

10 Goldstein LJ. Clinical reversal of drug resistance. *Curr Probl Cancer* 1995; 19: 65-124 [PMID: 7600845]

11 Ravna AW, Sager G. Molecular modeling studies of ABC transporters involved in multidrug resistance. *Mini Rev Med Chem* 2009; 9: 186-193 [PMID: 19200023 DOI: 10.2174/138955709787316065]

12 Morrow CS, Peklak-Scott C, Bishwokarma B, Kute TE, Smitherman PK, Townsend AJ. Multidrug resistance protein 1 (MRP1, ABCC1) mediates resistance to mitoxantrone via glutathione-dependent drug efflux. *Mol Pharmacol* 2006; 69: 1499-1505 [PMID: 16434618 DOI: 10.1124/mol.105.017988]

13 Doyle LA, Yang W, Abruzzo LV, Krogmann T, Gao Y, Rishi AK, Ross DD. A multidrug resistance transporter from human MCF-7 breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 15665-15670 [PMID: 9861027]

14 Fetsch PA, Abati A, Litman T, Morisaki K, Honjo Y, Mittal K, Bates SE. Localization of the ABCG2 mitoxantrone resistance-associated protein in normal tissues. *Cancer Lett* 2006; 235: 84-92 [PMID: 15990223 DOI: 10.1016/j.canlet.2005.04.024]

15 Robey RW, To KK, Polgar O, Dohse M, Fetsch P, Dean M, Bates SE. ABCG2: a perspective. *Adv Drug Deliv Rev* 2009; 61: 3-13 [PMID: 19135109 DOI: 10.1016/j.addr.2008.11.003]

16 Ding XW, Wu JH, Jiang CP. ABCG2: a potential marker of stem cells and novel target in stem cell and cancer therapy. *Life Sci* 2010; 86: 631-637 [PMID: 20159023 DOI: 10.1016/j.lfs.2010.02.012]

17 Scheper RJ, Broxterman HJ, Scheffer GL, Kaaijk P, Dalton WS, van Heijningen TH, van Kalken CK, Slovak ML, de Vries EG, van der Valk P. Overexpression of a M(r) 110,000 vesicular protein in non-P-glycoprotein-mediated multidrug resistance. *Cancer Res* 1993; 53: 1475-1479 [PMID: 7680954]

18 Tanaka H, Kato K, Yamashita E, Sumizawa T, Zhou Y, Yao M, Iwasaki K, Yoshimura M, Tsukihara T. The structure of rat liver vault at 3.5 angstrom resolution. *Science* 2009; 323: 384-388 [PMID: 19150846 DOI: 10.1126/science.1164975]

19 Stein U, Bergmann S, Scheffer GL, Scheper RJ, Royer HD, Schlag PM, Walther W. YB-1 facilitates basal and 5-fluorouracil-inducible expression of the human major vault protein (MVP) gene. *Oncogene* 2005; 24: 3606-3618 [PMID: 15750632 DOI: 10.1038/sj.onc.1208386]

20 王素霞, 张晓丽, 严小桐, 周雪芹, 赵秀芳. 雌激素受体与肺耐药相关蛋白在乳腺癌中的表达及临床意义. 河北医药 2013; 35: 411-412

21 魏金花, 张广美, 贾坤, 张媛媛, 周璐璐. 缺氧诱导因子-1α和肺耐药相关蛋白在卵巢癌耐药中的作用. 中国实用妇科与产科杂志 2012; 28: 398-400

22 Guo JC, Zhao YP, Liao Q, Chen G, Zhang LY. [Establishment, characterization, and biological analysis of pancreatic adenocarcinoma cell strain SW1990/FU]. *Zhongguo Yixue Kexuexuan Xuebao* 2005; 27: 592-596 [PMID: 16274039]

23 Depeille P, Cuq P, Passagne I, Evrard A, Vian L. Combined effects of GSTP1 and MRP1 in melanoma drug resistance. *Br J Cancer* 2005; 93: 216-223 [PMID: 15999103 DOI: 10.1038/sj.bjc.6602681]

24 耿明, 王琳, 曹永成, 刘晓红, 景洪标. 胃癌细胞对化疗药物的敏感性及其与Pgp GST-πTopoⅡ表达的关系. 中国组织化学与细胞化学杂志 2010; 19: 295-298

25 Slattery ML, Kampman E, Samowitz W, Caan BJ, Potter JD. Interplay between dietary inducers of GST and the GSTM-1 genotype in colon cancer. *Int J Cancer* 2000; 87: 728-733 [PMID: 10925368 DOI: 10.1002/1097-0215(20000901)]

26 Acuto O, Di Bartolo V, Michel F. Tailoring T-cell receptor signals by proximal negative feedback mechanisms. *Nat Rev Immunol* 2008; 8: 699-712 [PMID: 18728635 DOI: 10.1038/nri2397]

27 Cantero G, Campanella C, Mateos S, Cortés F. Topoisomerase II inhibition and high yield of endoreduplication induced by the flavonoids luteolin and quercetin. *Mutagenesis* 2006; 21: 321-325 [PMID: 16950806 DOI: 10.1093/mutage/gel033]

28 夏薇, 王宁, 王庆瑞. 盐酸千金藤碱逆转MCF-7/ADM细胞多药耐药性的作用及其机制. 重庆医学 2011; 40: 14-16

29 陈渝, 邓忠良. 蛋白激酶C在人骨肉瘤细胞多药耐药中的作用及机制. 第三军医大学学报 2011; 33: 1900-1903

30 张杨杨, 谢可鸣, 李玉玲, 穆会君, 殷莹, 张滨, 谢平. 白血病耐药细胞中葡萄糖神经酰胺合成酶对P-糖蛋白药物泵出功能的影响. 苏州大学学报(医学版) 2011; 31: 605-612

31 文蕾, 凌贤龙, 周源. 端粒酶线粒体转位与肝癌细胞多药耐药的相关性研究. 肿瘤 2012; 32: 7-15

32 盖晓东, 李国利, 黄京子, 徐鸿洁, 王丹. 野生型p53基因对肝癌细胞多药耐药的逆转作用及其相关机制. 癌症 2006; 25: 954-959

33 Roy KR, Arunasree KM, Reddy NP, Dheeraj B, Reddy GV, Reddanna P. Alteration of mitochondrial membrane potential by Spirulina platensis C-phycocyanin induces apoptosis in the doxorubicinresistant human hepatocellular-carcinoma cell line HepG2. *Biotechnol Appl Biochem* 2007; 47: 159-167 [PMID: 17274761 DOI: 10.1042/BA20060206]

34 刘兆辉, 刘红耀, 闫明, 王蒙. 苦参碱对T24/ADM细胞耐药逆转研究. 中国医药导报 2011; 8: 25-27

35 吴迪炯, 周郁鸿, 朱俊, 赵苇, 钟维君, 王珍, 钱欢, 李睿, 付珊, 孙洁. 苦参碱对急性早幼粒细胞白血病细胞

维甲酸耐药的逆转作用研究. 中华血液学杂志 2011; 32: 313-316
36 孙付军, 王宁, 李贵海, 王学荣, 李晓晶, 尹格平. 苦参碱对获得性多药耐药小鼠S180肿瘤细胞表达产物P170、LRP及TOPOⅡ表达的影响. 中药材 2004; 27: 838-840
37 胥雄阳, 何松. 苦参碱逆转人肝癌细胞株QGY/CDDP多药耐药性的实验研究. 重庆医科大学学报 2008; 33: 411-415
38 曹仕琼, 李萍, 尹太勇, 杨盛力. 姜黄素对人肝癌耐药细胞株Bel7402/5-FU多药耐药性的逆转作用. 世界华人消化杂志 2012; 20: 135-139
39 卢伟东, 傅仲学, 覃勇, 李雷, 杨闯. 姜黄素逆转结肠癌裸鼠移植瘤多药耐药的研究. 第三军医大学学报 2011; 33: 376-380
40 Andjelkovic T, Pesic M, Bankovic J, Tanic N, Markovic ID, Ruzdijic S. Synergistic effects of the purine analog sulfinosine and curcumin on the multidrug resistant human non-small cell lung carcinoma cell line (NCI-H460/R). *Cancer Biol Ther* 2008; 7: 1024-1032 [PMID: 18414057 DOI: 10.4161/cbt.7.7.6036]
41 余和平, 崔乐, 潘跃进. 青蒿素对乳腺癌多药耐药MCF-7/ADR细胞的逆转作用. 华中科技大学学报(医学版) 2011; 40: 91-94
42 陈卫强, 戚好文, 吴昌归, 李志奎, 柏长青, 刘颖格. 双氢青蒿素逆转人肺腺癌细胞多药耐药作用研究. 现代肿瘤医学 2006; 14: 284-286
43 余绪明, 王姗姗, 曹燕梅, 莫春辉, 李秀芳, 刘明, 汪选斌. 川芎嗪对人肝癌耐药细胞BEL-7402/ADM中P-gp表达的影响. 广东药学院学报 2010; 26: 0635-0639
44 刘明华, 任美萍, 李蓉,章桌, 肖顺汉. 川芎嗪对人卵巢癌顺铂耐药细胞株COC1/DDP的逆转作用研究. 重庆医学 2011; 40: 1982-1985
45 周颉, 傅建民, 石剑, 谢建生. 大黄素逆转乳腺癌细胞多药耐药及其对ERCC1蛋白表达的影响. 中华肿瘤防治杂志 2010; 17: 27-29
46 秦春明, 侯华新, 程道海, 李力, 黎丹戎, 刘瑛, 宋慧. 大黄素对顺铂耐药卵巢癌细胞的逆转作用及其相关基因表达研究. 天然产物研究与开发 2011; 23: 638-642
47 刘风玲, 杨旭. 粉防己碱逆转人卵巢癌耐药细胞SKOV3/DDP耐药的逆转作用及机制. 山东医药 2011; 51: 37-38
48 隋在云, 孙付军, 李贵海, 尹格平. 粉防己碱干预干预小鼠S180肿瘤细胞产生多药耐药的研究. 中药药理与临床 2006; 22: 33-35
49 张晔, 宋娜, 刘云鹏, 曲秀娟, 候科佐, 滕月娥, 张敬东. β-榄香烯逆转胃癌细胞株阿霉素耐药性的作用及机制研究. 中国医科大学学报 2011; 40: 968-970
50 盖晓东, 历春, 李倩, 刘艳波, 薛昊罡. 柴胡皂苷在体外对人白血病细胞株K562/ADM多药耐药性的逆转作用. 中国病理生理杂志 2012; 28: 76-80
51 石书红, 张辉. 甲基莲心碱对耐长春新碱人胃癌细胞多药耐药性逆转机制的初步研究. 实用癌症杂志 2012; 27: 334-336
52 Kakutani N, Murai M, Sakiyama N, Miyoshi H. Exploring the binding site of delta(lac)-acetogenin in bovine heart mitochondrial NADH-ubiquinone oxidoreductase. *Biochemistry* 2010; 49: 4794-4803 [PMID: 20459120 DOI: 10.1021/bi100454b]
53 王为光, 于广晴, 张国艳, 张纯, 董航. 榔皮素体外逆转K562/ADM耐药的研究. 黑龙江医药科学 2011; 34: 28-29
54 何欣, 曾柏荣, 刘华. 丹参酮ⅡA对小鼠S180肿瘤获得性多药耐药及P-gp、LRP的影响. 湖南中医药大学学报 2010; 30: 16-18
55 燕丹, 王坚, 袁耀佐, 王钿钿. 大蒜辣素对多药耐药HepG2细胞中MDR1基因表达影响. 时珍国医国药 2012; 23: 233-235

编辑 田滢 电编 鲁亚静

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

• 消息 •

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

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2013年6月18日; 21(17): 1630-1635
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

幽门螺杆菌外排泵的研究进展

吴明慧, 黄赞松, 黄衍强

■背景资料
幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染率高, 且对抗生素的耐药日益严重, 导致其根除率下降, 目前认为外排泵是*H. pylori*对大多数抗生素耐药的重要机制, 因此, 对*H. pylori*外排泵及其抑制剂的研究成为热点.

吴明慧, 广西医科大学研究生学院 广西壮族自治区南宁市 530021
黄赞松, 右江民族医学院附属医院消化内科 广西壮族自治区百色市 533000
黄衍强, 右江民族医学院微生物学和免疫学教研室 广西壮族自治区百色市 533000
吴明慧, 在读硕士, 主要从事中药对幽门螺杆菌多重耐药的研究.
广西自然科学基金资助项目, No. 2012GXNSFAA053172
广西教育厅重点课题基金资助项目, No. 201202ZD078
广西卫生厅课题基金资助项目, No. Z2010082
作者贡献分布: 本文综述由吴明慧完成; 黄衍强与黄赞松审校.
通讯作者: 黄赞松, 教授, 主任医师, 533000, 广西壮族自治区百色市城乡路98号, 右江民族医学院附属医院消化内科.
huangzansong@hotmail.com
收稿日期: 2013-01-21 修回日期: 2013-04-23
接受日期: 2013-04-27 在线出版日期: 2013-06-18

摘要
随着抗生素的广泛应用及滥用, 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)耐药现象日益严重, 并已出现了同时对甲硝唑、克拉霉素、阿莫西林耐药的多重耐药(multidrug resistance, MDR)株, 导致*H. pylori*根除率下降, 给临床治疗带来了极大的困难. 细菌外排泵的存在是细菌对大多数抗生素耐药的重要机制, 尤其在多重耐药中起重要作用. 因此为解决*H. pylori*日益增高的耐药性问题, 近年来, 外排泵的作用机制及其抑制剂的研究备受关注, 并有重要的研究发现, 对耐药性的防治具有重要的意义. 本文就*H. pylori*外排泵及其外排泵抑制剂的研究进展作一综述.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 幽门螺杆菌; 耐药; 外排泵; 抑制剂

核心提示: 本文通过综述幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)外排泵及其抑制剂研究现状及进展, 对了解*H. pylori*外排泵及其抑制剂的相关基本原理、提高对*H. pylori*合理用药指导, 有非常重要的临床应用及理论指导价值.

■同行评议者
杜雅菊, 教授, 哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科; 蓝宇, 教授, 北京积水潭医院消化科

Progress in research of *Helicobacter pylori* efflux pumps

Ming-Hui Wu, Zan-Song Huang, Yan-Qiang Huang

Ming-Hui Wu, Graduate College, Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Zan-Song Huang, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Youjiang Medical College for Nationalities, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Yan-Qiang Huang, Department of Microbiology and Immunology, Youjiang Medical College for Nationalities, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Reqion, China
Supported by: the Natural Science Foundation of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. 2012GXNSFAA053172; the Key Project of Foundation of the Education Department of Guangxi, No. 201202ZD078; the Scientific Research Foundation of Health Department of Guangxi, No. Z2010082
Correspondence to: Zan-Song Huang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Youjiang Medical College for Nationalities, 98 Chengxiang Road, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Reqion, China. huangzansong@hotmail.com
Received: 2013-01-21 Revised: 2013-04-23
Accepted: 2013-04-27 Published online: 2013-06-18

Abstract
The wide use and abuse of antibiotics have led to serious drug resistance of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), and strains simultaneously resistant to metronidazole, clarithromycin and amoxicillin have appeared. As a result, the rate of *H. pylori* eradication declines clinically. The presence of bacterial efflux pumps is an important mechanism responsible for bacterial resistance to most antibiotics, especially multiple drug resistance (MDR). In recent years, much attention has been paid to the research of efflux pumps and their inhibitors to solve the problem of drug resistance of *H. pylori*. In this paper we will introduce main efflux pumps and efflux pump inhibitors in *H. pylori*.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Resistance; Efflux pumps; Inhibitors

Wu MH, Huang ZS, Huang YQ. Progress in research of *Helicobacter pylori* efflux pumps. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(17): 1630-1635 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1630.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i17.1630

吴明慧, 黄赞松, 黄衍强. 幽门螺杆菌外排泵的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(17): 1630-1635 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1630.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i17.1630

■**创新盘点**
目前对抗生素耐药及治疗的研究较多, 但本文所提到的外排泵及其抑制剂研究仍较少, 特别是中草药对外排泵的抑制报道较少见.

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是定植于人胃黏膜的一种微需氧、螺旋状的革兰阴性杆菌[1], 可以导致慢性胃炎、胃十二指肠溃疡, 并与胃癌、胃黏膜相关性淋巴样组织(mucosa-associated lymphoid tissue, MALT)淋巴瘤的发生密切相关[2-4]. *H. pylori*感染率高, 据报道我国总感染率为56.22%[5], 全球已有超过一半的人感染*H. pylori*[6], 而*H. pylori*对抗生素的耐药问题却日益严重, 现已出现同时对阿莫西林、克拉霉素和甲硝唑耐药的多重耐药MDR株[7-9], 导致*H. pylori*根除率下降, 对人类健康构成严重的威胁, 因此*H. pylori*耐药机制的研究已经引起人们的高度重视. 国内外学者研究了不同类型外排泵的过度表达在*H. pylori*对抗生素耐药中的作用, 认为外排泵是*H. pylori*对大多数抗生素耐药的重要机制, 并证实RND外排泵的过度表达与*H. pylori*多重耐药性有关[10]. 因此, 对*H. pylori*外排泵及其抑制剂进行研究, 将具有重要的临床意义.

1 细菌外排泵系统的组成、分类及结构

细菌的外排系统于1980年首次被发现[11,12], 是目前公认的细菌对大多数种类的抗生素耐药的一个重要组成, 为一种非特异性耐药机制. 该机制通过外排泵介导, 将扩散入菌体内的药物或其他底物排出膜外, 从而减少药物的胞内浓度.

1.1 细菌外排泵系统的组成、分类 细菌外排泵(efflux pump)是一类存在于细菌细胞膜上的转运蛋白, 可分为5个家族: ATP结合盒超家族(ATP-binding cassette super family, ABC); 小多重耐药超家族(small multidrug resistance family, SMR); 主要易化因子超家族(major facilitator super family, MFS); 多药及毒性化合物外排家族(multidrug and toxic compound extrusion family, MATE)和耐药节结化细胞分化家族(resistance nodulation cell division family, RND)[13,14]. 根据药物外排机制的不同, 主动外排系统又可分为水解能驱动型外排泵和跨膜质子梯度能驱动型外排泵两大类, 其中仅ABC超家族属于ATP水解能驱动型外排泵[10]. 一般来说, 膜主动外排泵系统由3部分组成: 外膜通道蛋白、融合蛋白和胞质膜外排蛋白[15].

1.2 *H. pylori*外排泵系统的蛋白分子结构 革兰阴性细菌主要的外排泵是RND家族, 少部分为MFS家族及ABC转运体超家族[10,16]. RND家族最初发现于革兰阴性菌, RND外排泵系统包括质膜(内膜)主动转运体(AcrB)、膜融合蛋白(AcrA)及外膜通道蛋白(To1C)3个组成部分, 并以质子驱动力(H^+)为能源外排药物[17]. 研究表明, *H. pylori* 0605, *H. pylori* 0606和*H. pylori* 0970蛋白有RND类多重耐药外排泵的结构[18,19], *H. pylori* 0605蛋白包含6个α-螺旋和4个β-转角, 与大肠杆菌的TolC结构非常相似, 而*H. pylori* 0606和*H. pylori* 0970蛋白的结构与铜绿假单胞菌的MexA相似[20].

大多数MFS蛋白质有400-600个氨基酸残基长度和12、14或24个可能的跨膜α-螺旋. KgtP(α-酮戊二酸转运蛋白)和Mdr(多重耐药蛋白)这两个蛋白都属于MFS超家族[21,22], 其中*JH. pylori* 0334基因编码KgtP蛋白, 其产物由437个氨基酸组成; *JH. pylori* 1092编码Mdr外排蛋白, 其基因产物含386个氨基酸, 该完整的内膜蛋白均包含12个跨膜α-螺旋[23]. *H. pylori* 1181蛋白亦属于MFS超家族, 是一种完整的膜蛋白, 有12个疏水性跨膜片段, 这些片段含有20-25个氨基酸的长度, 疏水区域预测存在α-螺旋[24]. P-糖蛋白(P-glycoprotein, Pgp), 也被称为多药耐药蛋白1(MDR1)或ABC亚家族B成员1(ABCB1), 是一种完整的大的跨膜糖蛋白, 重约170 kDa, 由*ABCB1*基因编码并属于高度保守的ABC转运体超家族[25,26].

2 *H. pylori*主要外排泵的作用机制

细菌对抗生素的耐药机制基本分为4种: 酶的失活或修饰, 细菌膜渗透性的下降, 抗菌药物的主动外排增加, 抗菌药物对细菌靶位点的改变[27-29], 其中由外排泵介导的耐药最为普遍. 迄今为止, 国内外越来越多学者致力于外排泵对抗生素耐药的作用机理、编码基因及其调控机制的研究. 然而, 外排泵作为*H. pylori*对抗生素耐药机制研究还较少, 且国内外学者对*H. pylori*外排泵的研究主要针对RND家族.

2.1 RND外排泵的作用机制 在*H. pylori*外排泵的研究中, RND家族是研究较多的, 并证实与不同的抗生素耐药相关. 2000年, Bina等[30]报道*H. pylori* 11637菌株中存在3个RND外排泵系统, 命名为hefABC、hefDEF和hefGHI, 分别对应于*H. pylori* 26695中的ORFs 0605-0607, 0971-0969,

■同行评价
本文选题具有重要理论和实用价值, 对消化科同行了解*H. pylori*外排泵及其抑制剂的相关知识、对根除*H. pylori*药物的选择提供有意义的参考信息.

1326-1329; *H. pylori* J99中的ORFs 0552-0554, 0905-0903, 1246-1249, 并证明这3个RND外排泵系统在*H. pylori*对抗生素的耐药方面不起作用, 据此推测*H. pylori*中能量依赖性的外排泵是缺失的. 2005年, van Amsterdam等[31]研究证实*H. pylori* 0605和*H. pylori* 0971基因双突变株对甲硝唑的敏感性增加, 并排除了*rdxA*和*frxA*基因突变对甲硝唑产生的耐药影响. 2011年, Mehrabadi等[17]研究发现RND外排泵的4个*TolC*同源基因: *H. pylori* 0605, *H. pylori* 0971, *H. pylori* 1327和*H. pylori* 1489的表达与甲硝唑浓度的增加呈一致性, 且在甲硝唑较高浓度时发生过度表达, 据此推测RND外排泵家族TolC同源基因在*H. pylori*临床分离株对甲硝唑的耐药方面起重要作用. 与此不同是, Beil等[32]研究发现RND外排泵家族TolC同源基因*hefA*基因的过度表达与甲硝唑获得性耐药有关, 而*hefD*, *hefG*和*H. pylori* 1489基因不起作用. Kutschke等[33]构建了*H. pylori hefC*, *hefF*, *hefI* 3个等位基因突变株, 随后测试了这些突变株和野生株对9种抗生素的敏感性, 证实hefC突变株对9种化合物过度敏感, 推测*hefC*基因在*H. pylori*的RND外排系统的组成中起一定的作用.

2008年, 刘志强等[34]通过RT-PCR检测发现6株MDR株hefA mRNA表达水平显著高于野生敏感株, 同时构建了*hefA*基因敲除株, 用琼脂二倍稀释法测定基因敲除前后菌株对10种抗生素的MIC, 结果显示*hefA*基因敲除株对4种抗生素的MIC明显减小. 他们进一步PCR扩增发现所有20株临床分离株均存在*hefA*和*hefC*基因. 该研究表明主动外排系统*hefA*基因在*H. pylori*多重耐药机制中起重要作用; 且*hefABC*基因在*H. pylori*中普遍存在. 柴玉萍等[35]进一步证实hefABC-RND类外排泵系统介导了*H. pylori*多重耐药性的产生.

Hirata等[20]用RT-PCR检测15个克拉霉素耐药*H. pylori*菌株的RND外排泵基因*H. pylori* 0605-*H. pylori* 0607, *H. pylori* 0971-*H. pylori* 0969, *H. pylori* 1327-*H. pylori* 1329, *H. pylori* 1489-*H. pylori* 1487, 其中所有菌株均表达了*H. pylori* 0605-*H. pylori* 0607 mRNA, 推测这个基因簇可能导致克拉霉素耐药.

2011年, Trainor等[36]报道胆固醇能增加*H. pylori*对胆酸盐和ceragenins的耐药性, 并通过染色体转化获得*hefC*、*hefF*和*hefI*基因突变株, 在胆固醇存在的培养条件下, hefC突变株明显增加了对其他胆酸盐的敏感性, 表明hefC在*H. pylori*对胆酸盐和ceragenins的耐药方面起了至关重要的作用, 而*hefF*和*hefI*基因不起作用.

以上研究证明, RND家族中的*hefABC*基因不仅在*H. pylori*多重耐药中起重要作用, 还可能导致克拉霉素耐药, 其中*hefA*基因还与甲硝唑耐药相关, *hefC*基因在*H. pylori*对胆酸盐和ceragenins的耐药方面起至关重要的作用.

2.2 ABC转运蛋白作用 ABC转运蛋白为能源依赖性外排泵[37], 其在*H. pylori*中的作用研究还较少. Babić等[38]首次研究了多药转运体Pgp在*H. pylori*感染中的作用. Pgp是一个能积极泵出所有潜在的细胞毒性物质的高浓度的多药转运体, 属于ATP依赖的外排泵. 该研究显示*H. pylori*根除治疗失败的患者治疗前的Pgp活性显著高于*H. pylori*有效根除患者或阴性对照组, 推测限制胃肠道对抗生素的利用度的潜在机制是Pgp介导的药物蓄积的减少.

Falsafi等[39]通过抗生素的蓄积实验证实5个多重耐药MAR分离株中4种抗生素: β-内酰胺类, 四环素、甲硝唑、环丙沙星均有能源依赖的外排泵存在, 而琥乙红霉素没有, 表明能源依赖的外排泵在*H. pylori*临床分离株中通过广泛特有的多药耐药外排方式对上述4种结构不同的抗生素耐药起作用, 且多重耐药外排泵并不在所有分离株中存在或起作用, 或者多重耐药外排泵本质上是静息的, 直到他在特殊诱导条件下才被激活.

2011年米阳[40]研究发现多重耐药株中*msbA*和*spab*基因的表达量明显高于敏感株, *msbA*和*spab*基因敲除株对4种抗生素的敏感性较野生株明显增加, 临床分离的20株*H. pylori*中均检测出*msbA*和*spab*基因, 得出结论: ABC转运蛋白*msbA*和*spab*基因在*H. pylori*多重耐药机制中起重要作用.

3 *H. pylori*外排泵抑制剂研究进展

已有研究证实*H. pylori*的多重耐药与外排泵系统有关, 为解决细菌耐药性问题, 近年来外排泵抑制剂(efflux pump inllibitors, EPIs)的研究受到广泛关注. EPIs的共同特点是能抑制细菌对药物的外排, 增加药物的胞内浓度, 从而使耐药菌恢复对抗菌药物的敏感性[10,41]. 其作用机制有: 干扰外排泵组装、阻断外排泵能量来源、阻碍底物通过外排泵通道等[42].

3.1 外排泵抑制剂羰基氰氯苯腙 基氰氯苯(carbonyl cyaNide m-chlorophenylhydrazone, CCCP),

为质子动力解偶联剂, 能够传递质子以破坏跨膜电化学梯度, 使大部分以H^+为外排动力能源的外排泵系统受到抑制, 从而恢复细菌对多种抗生素的敏感性[43,44]. Zhang等[8]研究显示, CCCP能降低MDR *H. pylori*菌株对氯霉素、琥乙红霉素、头孢噻肟、头孢曲松和四环素的MIC, 但对环丙沙星、哌拉西林、青霉素G、克林霉素MIC无影响, 提示前5种抗生素可能是hefABC外排泵系统的底物, 并推测该作用是由CCCP消弱外排泵系统的外排作用而引起的. 对于敏感株, CCCP作用不明显, 考虑可能与外排泵表达量过少有关. 与Zhang等的研究有所不同的是, Trainor等[36]报道CCCP能降低部分MAR株对β-内酰胺类、四环素、甲硝唑、红霉素和环丙沙星MIC.

3.2 外排泵抑制剂PAbN 二胺类化合物(phenyl alanine arginyl b-naphtylamide, PAbN)属于RND型外排泵抑制剂, 考虑其机制为阻碍底物通过外排泵通道[45]. Hirata等[20]报道PAbN能降低克拉霉素耐药*H. pylori*菌株对克拉霉素的MIC, 且克拉霉素的MIC随PAbN呈剂量依赖性的减少, 提示*H. pylori*的外排泵与克拉霉素的耐药发生相关, 但对于敏感株, PAbN作用亦不明显.

3.3 外排泵抑制剂PPIs 质子泵抑制剂(proton pump inhibitors, PPIs)作为制酸剂广泛用于抗*H. pylori*治疗, 但其作为外排泵抑制剂的研究很少. 有研究报道泮托拉唑在10 mg/L浓度时可使*H. pylori* MDR株对琥乙红霉素、四环素、克林霉素、头孢噻肟和头孢曲松的MIC明显下降[46], 提示质子泵抑制剂可能抑制外排泵的外排作用, 推测其作用机制与CCCP相似. 并进一步比较了5种PPIs对*H. pylori*临床常用抗菌药物MIC的影响, 发现雷贝拉唑影响最明显, 其次为泮托拉唑, 而埃索美拉唑、奥美拉唑和兰索拉唑对其无影响, 提示雷贝拉唑能更好地抑制外排泵, 从而逆转该耐药现象[8].

4 结论

RND外排泵*hefABC*基因、ABC转运蛋白*msbA*和*spab*基因在*H. pylori*多重耐药机制中起重要作用. 外排泵抑制剂CCCP、PAbN及PPIs均能不同程度地抑制*H. pylori*外排泵的外排作用, 使部分抗生素的MIC下降. Zhang等[8]和张展等[46]首次发现外排泵抑制剂可以逆转MDR *H. pylori*的部分耐药性, 从而为探寻根除耐药*H. pylori*药物提供了新的思路. 值得注意的是, 已有研究证实由相同小檗属植物产生的一种生物碱(小檗碱), 能抑制金黄色葡萄球菌的NorA外排泵[47], 另有研究显示中药浙贝母可能抑制耐药菌株细胞膜上的主动外排泵, 从而逆转不同耐药机制的耐药菌株[48,49], 穿心莲内酯可在mRNA水平抑制铜绿假单胞菌的外排泵MexAB-oprm的表达[50], 这些都提示植物可能会产生抗菌化合物使它们的活性成为外排泵抑制剂, 但是小檗碱等中药能否抑制*H. pylori*的外排泵, 还有待进一步研究. 因此, 利用我国中草药资源优势, 寻找有应用前景的植物作为外排泵抑制剂, 将对解决*H. pylori*感染问题具有重要的意义. 然而, 目前国内外对外排泵及外排泵抑制剂在*H. pylori*多重耐药中的作用研究还较少, 值得进一步探讨.

5 参考文献

1 Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1984; 1: 1311-1315 [PMID: 6145023 DOI: 10.1016/S0140-6736(84)91816-6]

2 周丽雅, 崔荣丽. 幽门螺杆菌与胃癌. 中华消化杂志 2010; 30: 497-505

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

4 吕琳, 罗红春, 杨致邦, 曾瀚庆, 梅浙川. 重庆地区幽门螺杆菌临床株耐药性研究. 重庆医学 2009; 386: 669-671

5 张万岱, 胡伏莲, 萧树东, 徐智民. 中国自然人群幽门螺杆菌感染的流行病学调查. 现代消化及介入诊疗 2010; 15: 265-270

6 Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA, Atherton J, Axon AT, Bazzoli F, Gensini GF, Gisbert JP, Graham DY, Rokkas T, El-Omar EM, Kuipers EJ. Management of Helicobacter pylori infection--the Maastricht IV/ Florence Consensus Report. *Gut* 2012; 61: 646-664 [PMID: 22491499 DOI: 10.1136/gutjnl-2012-302084]

7 Boyanova L, Gergova G, Nikolov R, Davidkov L, Kamburov V, Jelev C, Mitov I. Prevalence and evolution of Helicobacter pylori resistance to 6 antibacterial agents over 12 years and correlation between susceptibility testing methods. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2008; 60: 409-415 [PMID: 18248937 DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2007.11.008]

8 Zhang Z, Liu ZQ, Zheng PY, Tang FA, Yang PC. Influence of efflux pump inhibitors on the multidrug resistance of Helicobacter pylori. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 1279-1284 [PMID: 20222174 DOI: 10.3748/wjg.v16.i10.1279]

9 Wueppenhorst N, Stueger HP, Kist M, Glocker E. Identification and molecular characterization of triple- and quadruple-resistant Helicobacter pylori clinical isolates in Germany. *J Antimicrob Chemother* 2009; 63: 648-653 [PMID: 19190100 DOI: 10.1093/jac/dkp003]

10 Zechini B, Versace I. Inhibitors of multidrug resistant efflux systems in bacteria. *Recent Pat Antiinfect Drug Discov* 2009; 4: 37-50 [PMID: 19149695 DOI: 10.2174/157489109787236256]

11 McMurry L, Petrucci RE, Levy SB. Active efflux of tetracycline encoded by four genetically different

tetracycline resistance determinants in Escherichia coli. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1980; 77: 3974-3977 [PMID: 7001450 DOI: 10.1073/pnas.77.7.3974]
12 Ball PR, Shales SW, Chopra I. Plasmid-mediated tetracycline resistance in Escherichia coli involves increased efflux of the antibiotic. *Biochem Biophys Res Commun* 1980; 93: 74-81 [PMID: 6990931 DOI: 10.1016/S0006-291X(80)80247-6]
13 Wasaznik A, Grinholc M, Bielawski KP. [Active efflux as the multidrug resistance mechanism]. *Postepy Hig Med Dosw* (Online) 2009; 63: 123-133 [PMID: 19373193]
14 Piddock LJ. Clinically relevant chromosomally encoded multidrug resistance efflux pumps in bacteria. *Clin Microbiol Rev* 2006; 19: 382-402 [PMID: 16614254 DOI: 10.1128/CMR.19.2.382-402.2006]
15 Fralick JA. Evidence that TolC is required for functioning of the Mar/AcrAB efflux pump of Escherichia coli. *J Bacteriol* 1996; 178: 5803-5805 [PMID: 8824631]
16 米阳, 郑鹏远, 张炳勇, 刘志强, 宋春花, 杨平常. 外排泵ABC转运蛋白基因msbA和spab在幽门螺杆菌多重耐药中的重要作用. 世界华人消化杂志 2006; 14: 1499
17 Mehrabadi JF, Sirous M, Daryani NE, Eshraghi S, Akbari B, Shirazi MH. Assessing the role of the RND efflux pump in metronidazole resistance of Helicobacter pylori by RT-PCR assay. *J Infect Dev Ctries* 2011; 5: 88-93 [PMID: 21389587 DOI: 10.3855/jidc.1187]
18 Liu ZQ, Zheng PY, Yang PC. Efflux pump gene hefA of Helicobacter pylori plays an important role in multidrug resistance. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 5217-5222 [PMID: 18777600 DOI: 10.3748/wjg.14.5217]
19 Altschuler E. Gastric Helicobacter pylori infection as a cause of idiopathic Parkinson disease and nonarteric anterior optic ischemic neuropathy. *Med Hypotheses* 1996; 47: 413-414 [PMID: 8951807 DOI: 10.1016/S0306-9877(96)90223-6]
20 Hirata K, Suzuki H, Nishizawa T, Tsugawa H, Muraoka H, Saito Y, Matsuzaki J, Hibi T. Contribution of efflux pumps to clarithromycin resistance in Helicobacter pylori. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25 Suppl 1: S75-S79 [PMID: 20586871 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2009.06220.x]
21 Tsatskis Y, Khambati J, Dobson M, Bogdanov M, Dowhan W, Wood JM. The osmotic activation of transporter ProP is tuned by both its C-terminal coiled-coil and osmotically induced changes in phospholipid composition. *J Biol Chem* 2005; 280: 41387-41394 [PMID: 16239220 DOI: 10.1074/jbc.M508362200]
22 Fluman N, Bibi E. Bacterial multidrug transport through the lens of the major facilitator superfamily. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1794: 738-747 [PMID: 19103310 DOI: 10.1016/j.bbapap.2008.11.020]
23 Saidijam M, Bettaney KE, Szakonyi G, Psakis G, Shibayama K, Suzuki S, Clough JL, Blessie V, Abu-Bakr A, Baumberg S, Meuller J, Hoyle CK, Palmer SL, Butaye P, Walravens K, Patching SG, O'reilly J, Rutherford NG, Bill RM, Roper DI, Phillips-Jones MK, Henderson PJ. Active membrane transport and receptor proteins from bacteria. *Biochem Soc Trans* 2005; 33: 867-872 [PMID: 16042616 DOI: 10.1042/BST0330867]
24 Morrison S, Ward A, Hoyle CJ, Henderson PJ. Cloning, expression, purification and properties of a putative multidrug resistance efflux protein from Helicobacter pylori. *Int J Antimicrob Agents* 2003; 22: 242-249 [PMID: 13678828 DOI: 10.1016/S0924-8579(03)00222-X]
25 Oh JH, Dong MS, Choi MG, Yoo HW, Lee SB, Park YI, Chung IS. Effects of CYP2C19 and MDR1 genotype on the eradication rate of Helicobacter pylori infection by triple therapy with pantoprazole, amoxycillin and clarithromycin. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 294-298 [PMID: 18823430 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05605.x]
26 Omar M, Crowe A, Parsons R, Ee H, Tay CY, Hughes J. P-glycoprotein expression in Helicobacter pylori-positive patients: the influence of MDR1 C3435T polymorphism. *J Dig Dis* 2012; 13: 414-420 [PMID: 22788927 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2012.00606.x]
27 Tenover FC. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *Am J Infect Control* 2006; 34: S3-S10; discussion S64-S73 [PMID: 16813980 DOI: 10.1016/j.amjmed.2006.03.011]
28 Poole K. Efflux pumps as antimicrobial resistance mechanisms. *Ann Med* 2007; 39: 162-176 [PMID: 17457715 DOI: 10.1080/07853890701195262]
29 Neonakis IK, Spandidos DA, Petinaki E. Confronting multidrug-resistant Acinetobacter baumannii: a review. *Int J Antimicrob Agents* 2011; 37: 102-109 [PMID: 21130607 DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2010.10.014]
30 Bina JE, Alm RA, Uria-Nickelsen M, Thomas SR, Trust TJ, Hancock RE. Helicobacter pylori uptake and efflux: basis for intrinsic susceptibility to antibiotics in vitro. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 248-254 [PMID: 10639345 DOI: 10.1128/AAC.44.2.248-254.2000]
31 van Amsterdam K, Bart A, van der Ende A. A Helicobacter pylori TolC efflux pump confers resistance to metronidazole. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 1477-1482 [PMID: 15793129 DOI: 10.1128/AAC.49.4.1477-1482.2005]
32 Beil W, Sewing KF, Busche R, Wagner S. Helicobacter pylori augments the acid inhibitory effect of omeprazole on parietal cells and gastric H(+)/K(+)-ATPase. *Gut* 2001; 48: 157-162 [PMID: 11156634 DOI: 10.1136/gut.48.2.157]
33 Kutschke A, de Jonge BL. Compound efflux in Helicobacter pylori. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 3009-3010 [PMID: 15980386 DOI: 10.1128/AAC.49.7.3009-3010.2005]
34 刘志强, 郑鹏远. 主动外排泵外膜蛋白编码基因hefA在幽门螺杆菌多重耐药中的重要作用. 世界华人消化杂志 2008; 16: 1751-1756
35 柴玉萍, 刘志强, 郑鹏远, 党君英, 吴菁菁. 幽门螺杆菌临床分离株多重耐药研究. 中外医疗 2009; 28: 64-65
36 Trainor EA, Horton KE, Savage PB, Testerman TL, McGee DJ. Role of the HefC efflux pump in Helicobacter pylori cholesterol-dependent resistance to ceragenins and bile salts. *Infect Immun* 2011; 79: 88-97 [PMID: 20974830 DOI: 10.1128/IAI.00974-09]
37 Rees DC, Johnson E, Lewinson O. ABC transporters: the power to change. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2009; 10: 218-227 [PMID: 19234479 DOI: 10.1038/nrm2646]
38 Babić Z, Kucisec-Tepes N, Troskot R, Dorosulić Z, Svoboda-Beusan I. The importance of P-glycoprotein multidrug transporter activity measurement in patients with Helicobacter pylori infection. *Coll Antropol* 2009; 33: 1145-1150 [PMID: 20102060]
39 Falsafi T, Ehsani A, Niknam V. The role of active efflux in antibiotic - resistance of clinical isolates of Heli-

cobacter pylori. *Indian J Med Microbiol* 2009; 27: 335-340 [PMID: 19736403 DOI: 10.4103/0255-0857.55452]
40 米阳. 外排泵ABC转运白基因msbA和spab在幽门螺杆菌多重耐药中的作用. 郑州大学, 2011
41 German N, Wei P, Kaatz GW, Kerns RJ. Synthesis and evaluation of fluoroquinolone derivatives as substrate-based inhibitors of bacterial efflux pumps. *Eur J Med Chem* 2008; 43: 2453-2463 [PMID: 18358571 DOI: 10.1016/j.ejmech.2008.01.042]
42 郑鹏远, 刘志强, 张展. 幽门螺杆菌多重耐药性与其外排泵抑制剂研究进展. 现代消化及介入诊疗 2010; 15: 307-311
43 Fanélus I, Desrosiers RR. Mitochondrial Uncoupler Carbonyl Cyanide m-Chlorophenylhydrazone Induces the Multimer Assembly and Activity of Repair Enzyme Protein L-Isoaspartyl Methyltransferase. *J Mol Neurosci* 2013 Jan 15. *[Epub ahead of print]* [PMID: 23319267 DOI: 10.1007/s12031-012-9946-7]
44 Ding WX, Li M, Biazik JM, Morgan DG, Guo F, Ni HM, Goheen M, Eskelinen EL, Yin XM. Electron microscopic analysis of a spherical mitochondrial structure. *J Biol Chem* 2012; 287: 42373-42378 [PMID: 23093403 DOI: 10.1074/jbc.M112.413674]
45 Tohidpour A, Najar Peerayeh S, Mehrabadi JF, Rezaei Yazdi H. Determination of the efflux pump-mediated resistance prevalence in Pseudomonas aeruginosa, using an efflux pump inhibitor. *Curr Microbiol* 2009; 59: 352-355 [PMID: 19554368 DOI: 10.1007/s00284-009-9444-5]
46 张展, 刘志强, 郑鹏远, 唐芙爱. 外排泵抑制剂对幽门螺杆菌多重耐药性的影响. 世界华人消化杂志 2010; 18: 262-268
47 宋战昀, 冯新, 韩文瑜, 丁壮, 陈敖第, 雷连成. 金黄色葡萄球菌norA外输泵中药耐药抑制剂的筛选. 吉林农业大学学报 2007; 293: 329-333
48 宋战昀. 金黄色葡萄球菌多重耐药株的构建及其中药外输泵耐药抑制剂的研究. 吉林大学, 2005
49 丁雪飞, 田耀洲. 中西医治疗幽门螺杆菌的临床研究进展. 浙江中西医结合杂志 2010; 20: 194-197
50 李洪涛, 吴春民, 覃慧敏, 李国军, 宋建新. 穿心莲内酯对铜绿假单胞菌PAO1株MexAB-OprM外排泵mRNA表达的影响. 中华传染病杂志 2007; 256: 338-341

编辑 田滢 电编 鲁亚静

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

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873

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

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2013年6月18日; 21(17): 1636-1641
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

慢病毒介导的*E2F-1*沉默对人胃癌细胞MGC803中药人参黄芪复方药物敏感性的影响

罗 文, 吴 锟, 王晓通, 谢玉波, 肖 强

■背景资料
人参黄芪中的多糖等重要成分具有明显的抗肿瘤作用, 以其不良反应小、无骨髓抑制等特点而倍受关注. 与常规化疗药物相比, 中药抗肿瘤的疗效一般. 因此, 研究如何提高肿瘤对中药抗肿瘤的敏感性具有重意义.

罗文, 吴锟, 王晓通, 肖强, 广西医科大学第一附属医院胃肠腺体外科 广西壮族自治区南宁市 530021
谢玉波, 广西医科大学第一附属医院麻醉科 广西壮族自治区南宁市 530021
罗文, 主要从事胃癌、甲状腺及乳腺癌的基础与临床研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 30860273
作者贡献分布: 此课题由肖强与谢玉波设计; 实验由罗文、吴锟及王晓通共同完成; 论文写作由罗文与吴锟完成.
通讯作者: 肖强, 教授, 主任医师, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路22号, 广西医科大学第一附属医院胃肠腺体外科.
xiaoqiang20050@yahoo.com.cn
收稿日期: 2013-04-15 修回日期: 2013-05-14
接受日期: 2013-05-19 在线出版日期: 2013-06-18

Lentivirus-mediated *E2F-1* gene silencing enhances sensitivity of gastric carcinoma MGC-803 cells to compound ginseng and astragalus

Wen Luo, Kun Wu, Xiao-Tong Wang, Yu-Bo Xie, Qiang Xiao

Wen Luo, Kun Wu, Xiao-Tong Wang, Qiang Xiao, Department of Gastrointestinal and Gland Surgery, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Yu-Bo Xie, Department of Anesthesiology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Supported by: National Science Foundation of China, No. 30860273
Correspondence to: Qiang Xiao, Professor, Chief Physician, Department of Gastrointestinal and Gland Surgery, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 22 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. xiaoqiang20050@yahoo.com.cn
Received: 2013-04-15 Revised: 2013-05-14
Accepted: 2013-05-19 Published online: 2013-06-18

Abstract

AIM: To observe the effect of recombinant lentivirus-mediated *E2F-1* gene silencing on sensitivity of gastric carcinoma MGC-803 cells to compound ginseng and astragalus.

METHODS: MGC-803 cells were plated and divided into four groups: a normal control group (medicine medium), a blank control group, a negative LV-RNAi control group (medicine medium + infection with empty lentiviral vector particles 2.0×10^9 TU/mL) and an E2F-1-RNAi-LV group (medicine medium + infection with recombinant E2F-1 lentiviral particles 2.0×10^9 TU/mL). The mRNA and protein expression levels of E2F1 were detected by RT-PCR and Western blot. Cell proliferation was detected by MTT assay. Cell colony formation was detected by Giemsa staining. Cell apoptosis was observed by flow cytometry, and cell migration was detected by cell scratch assay.

RESULTS: Infection with the recombinant lentiviral vector significantly decreased the protein and mRNA expression levels of *E2F-1* compared to the two control groups (0.384 ± 0.036 *vs* 0.883 ± 0.051 and 0.923 ± 0.049, 0.220 ± 0.056 *vs* 0.729 ± 0.021 and 0.712 ± 0.037, $P < 0.05$). Compound ginseng and astragalus inhibited MGC-803 cell growth, induced cell apoptosis, and reduced cell colony formation and migration. Compared to the two control groups, the rates of reduced cell colony formation and cell apoptosis were significantly increased and the areas of cell colony formation and migration were significantly decreased in the *E2F-1* gene silencing group (0.789 ± 0.013 *vs* 0.484 ± 0.060 and 0.454 ± 0.006, 0.383 ± 0.027 *vs* 0.114 ± 0.038 and 0.089 ± 0.051, 0.024 ± 0.003 *vs* 0.036 ± 0.004 and 0.052 ± 0.002, 0.553 ± 0.038 *vs* 0.897 ± 0.020 and 0.928 ± 0.051, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Recombinant lentivirus-mediated *E2F-1* gene silencing effectively enhances the sensitivity of MGC-803 cells to compound ginseng and astragalus.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Compound ginseng and astragalus; *E2F-1*; MGC-803 cells; Drug sensitivity

Luo W, Wu K, Wang XT, Xie YB, Xiao Q. Lentivirus-mediated *E2F-1* gene silencing enhances sensitivity of gastric carcinoma MGC-803 cells to compound ginseng and astragalus. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(17): 1636-1641 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1636.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i17.1636

■同行评议者
唐文富, 副教授, 四川大学华西医院中西医结合科

摘要

目的: 利用重组慢病毒介导的*E2F-1*基因沉默载体感染人胃癌MGC-803细胞, 观察其对中药人参黄芪复方药物敏感性的影响.

方法: 将胃癌MGC-803细胞接种于培养板中分为4组: 正常组(正常培养基)、空白对照组(中药培养基)、阴性对照LV-RNAi组(中药培养基+感染空载体慢病毒颗粒2.0×10^9 TU/mL)、E2F-1-RNAi-LV组(中药培养基+感染*E2F-1*基因重组慢病毒颗粒2.0×10^9 TU/mL), 分别采用半定量逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)和Western blot检测E2F-1 mRNA及蛋白表达; MTT方法检测细胞的增殖抑制率; Giemsa染色检测细胞的克隆形成; 流式细胞仪检测细胞的凋亡; 细胞划痕实验检测细胞迁移能力.

结果: *E2F-1*基因沉默蛋白及mRNA表达水平均明显下降, 差异有统计学意义(0.384±0.036 *vs* 0.883±0.051和0.923±0.049, 0.220±0.056 *vs* 0.729±0.021和0.712±0.037, $P<0.05$). 中药人参黄芪复方能抑制人胃癌MGC-803细胞生长、诱导胃癌细胞凋亡、抑制细胞克隆形成及迁移; 与空白对照组及阴性对照组相比较, *E2F-1*基因沉默组MGC-803细胞增殖抑制率、细胞凋亡率显著提高, 其细胞克隆形成、细胞迁移面积显著降低, 差异均有统计学意义(0.789±0.013 *vs* 0.484±0.060和0.454±0.006, 0.383±0.027 *vs* 0.114±0.038和0.089±0.051, 0.024±0.003 *vs* 0.036±0.004和0.052±0.002, 0.553±0.038 *vs* 0.897±0.020和0.928±0.051, $P<0.05$).

结论: 重组慢病毒载体介导的*E2F-1*基因沉默能有效增强中药人参黄芪复方对人胃癌MGC-803细胞的药物敏感性.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 中药人参黄芪复方; *E2F-1*; 人胃癌MGC803细胞; 药物敏感性

核心提示: 慢病毒介导*E2F-1*基因沉默转染人胃癌MGC803细胞, 可提高胃癌细胞对中药人参黄芪复方的敏感性, 这极有可能通过*E2F-1*基因沉默增加Caspase 3、PTEN的表达, 抑制细胞内药物外排介质P-糖蛋白(P-glycoprotein)及细胞内药物外排转运蛋白MRP1的表达, 间接使药物泵出细胞外减少, 使细胞内的药物有效浓度提高, 从而提高人胃癌细胞对中药人参黄芪复方敏感性.

罗文, 吴锟, 王晓通, 谢玉波, 肖强. 慢病毒介导的*E2F-1*沉默对人胃癌细胞MGC803中药人参黄芪复方药物敏感性的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(17): 1636-1641 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1636.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i17.1636

0 引言

人参、黄芪是被证实有明确抗肿瘤作用的传统中药, 因其具有不良反应少、不易产生耐药性、提高机体免疫力等优点而备受关注, 但在临床治疗中, 中药对肿瘤细胞的杀灭作用远不及传统化疗药物, 因而限制了其在临床的广泛应用. 如何提高肿瘤对中药的敏感性业已成为目前研究的热点. 近年研究发现, 凋亡抑制是肿瘤多药耐药的重要机制之一, 通过调控凋亡相关基因的表达可直接影响肿瘤细胞对化疗药物的敏感性[1]. 我们前期研究显示, *E2F-1*基因沉默可调控*PTEN*、*NF-κB*、*Caspase 3*、*Caspase 9*等多种凋亡相关基因的表达, 并明显诱导胃癌细胞凋亡[2], 但有关*E2F-1*基因沉默与胃癌细胞对中药药物敏感性的关系未见相关报道. 因此本实验通过慢病毒介导*E2F-1*基因沉默, 观察*E2F-1*基因沉默后对人胃癌细胞株MGC803中药人参黄芪复方敏感性的影响.

1 材料和方法

1.1 材料 人胃癌细胞MGC-803购自中国科学院细胞库(上海); 重组慢病毒载体(E2F-1-RNAi-LV)由上海Genechem公司构建; DMEM培养基(Hyclone公司); 胰蛋白酶和胎牛血清(杭州四季青公司); 人参、黄芪、木馒头、当归、白芍、鳖甲、桃仁、贝母(湖北金贵中药饮片有限公司, 生产批号: 100301、100102、101101、100302、110201、107001、110401、110301).

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: MGC-803细胞用含10%胎牛血清的DMEM培养基, 在37 ℃、5%CO_2、饱和湿度条件下传代培养, 选用对数生长期细胞进行实验.

1.2.2 中药人参黄芪复方配方: 人参、黄芪、木馒头各3 g, 当归18 g, 白芍、鳖甲、桃仁、贝母各2 g. 共35 g. 双蒸水漂洗2次, 加1000 mL双蒸水文火煎煮30 min, 再加1000 mL双蒸水继续煎煮, 最后定容50 mL, 双层纱布过滤去渣, 浓度得700 mg/mL, 10000 r/min离心10 min去除难溶细杂质, 0.45 μmol/L滤器过滤除菌. 4 ℃保存, 临用

■研发前沿

RNA干扰技术(RNA interference, RNAi)是指由双链RNA引发的转录后基因沉默机制, 具有序列特异性和高效性, RNAi作为一门新的基因阻断技术, 是一种有广阔应用前景的抗肿瘤基因治疗方法, 近年来受到人们的广泛关注.

■创新盘点
本实验应用现代RNA干扰技术与传统中药相结合，探讨慢病毒介导*E2F-1*基因沉默对胃癌MGC803细胞中药人参黄芪复方药物敏感性有影响.

表 1 PCR各引物序列及片段大小

基因名称	序列	PCR产物(bp)
GAPDH	sense: 5'-ACCACAGTCCATGCCATCAC-3';	
	Antisense: 5'-TCACCACCCTGTTGCTGTA-3';	450
E2F-1	Sense: 5'-CTGCCTGCTGCTTCCACC-3';	
	Antisense: 5'-CCACCCCACCCACCTACC-3';	275

前用DMEM培养液配成所需浓度.

1.2.3 慢病毒颗粒转染人胃癌MGC-803细胞: 取对数生长期人胃癌MGC-803细胞按3×10^{4}个/孔接种于6孔板, 用无抗生素10%胎牛血清的DMEM培养基, 培养至细胞密度达50%左右, 然后按照慢病毒使用说明书进行转染, 慢病毒颗粒用量为7.5 μL/孔. 转染后6 h将培养液更换为无抗生素20%胎牛血清的DMEM培养基, 转染后24 h常规换液继续培养, 待细胞长满6孔板, 用胰酶消化下来, 进行后续实验.

1.2.4 Western blot检测E2F-1蛋白的表达: 细胞裂解, 收集蛋白, BCA法测定细胞蛋白质含量. 蛋白变性后每孔上样30 ng, 经10%SDS聚丙烯酰胺凝胶电泳后转移至PVDF膜上, 用含5%牛血清白蛋白的TBST(TrisHCl 20 mmol/L, NaCl 37 mmol/L, 0.1%Tween20)封闭1 h, 用Cdx2、GAPDH两张膜一抗4 ℃孵育过夜, TBST洗3次, 5min/次, 相应的二抗孵育1 h, TBST洗3次, 5 min/次, ECL化学发光检测蛋白质印迹, 将暗夹夹紧压片, 显影、定影、水冲洗胶片晾干后保存.

1.2.5 半定量RT-PCR检测E2F-1 mRNA的表达: 根据Genebank人类的E2F-1的cDNA序列, 用引物设计软件设计引物, 上海生物技术有限公司合成. 引物在使用前先离心3-5 s, 使黏附在管壁上的Oligo DNA集中于管底, 用TE-buffer溶解为10 pmol/μL, -20 ℃贮存. 各引物序列如表1, PCR仪扩增及产物电泳, 将凝胶放入凝胶成像分析系统扫描电泳图像.

1.2.6 细胞增殖抑制实验: 取对数生长期细胞悬液, 以每孔5×10^{3}个/100 μL分别相应的接种到96孔板中. 37 ℃孵育24 h. 然后按实验设计, 每组设8个复孔. 培养48 h后, 每孔加5 mg/mL LMTT试剂10 μL, 继续孵育4 h, 弃培养液, 各孔加DMSO 150 μL, 振荡10 min. 用酶标仪测定每孔吸光度(*A*)值. 实验重复3次, 取平均值进行统计学分析. 按下列公式计算肿瘤抑制率, 抑制率(%) = (1-实验孔*A*均值/对照组*A*均值)×100%.

1.2.7 Giemsa染色检测各组细胞的克隆形成: 取对数生长期细胞重悬, 将4组细胞以500个/孔接种于6孔板, 每组设3个复孔, 各处理组所加药物浓度为MTT法计算所得0.1×IC_{50}. 37 ℃孵育7 d, 当6孔板中出现肉眼可见克隆时即终止培养, 弃培养液, PBS浸洗细胞2次, 甲醇固定5 min, Giemsa染色30 min, 冲去染色液, 室温下干燥. 在显微镜下计数含50个细胞以上的细胞克隆数. 克隆形成率 = (每孔克隆数/每孔接种细胞数)×100%

1.2.8 流式细胞仪检测细胞的凋亡: 取对数生长期细胞重悬, 将4组细胞以每孔5×10^{4}个/1 mL接种于6孔板, 每组细胞设3个复孔. 然后按实验设计, 加入不同浓度的药物. 各处理组所加药物浓度为MTT法计算所得0.1×IC_{50}. 37 ℃孵育48 h后, 采用Annexin V-FITC法检测癌细胞凋亡, 消化各实验组细胞, 收集于EP管中, PBS洗涤, 离心收集细胞, 进行流式细胞分析.

1.2.9 划痕实验检测药物对细胞迁移能力的影响: 取对数生长期细胞重悬, 将4组细胞以5×10^{4}个/孔接种于6孔板, 37 ℃孵育24 h, 用20 μL移液器枪头于培养板底部划“一”字痕, PBS冲洗2遍, 彻底洗脱悬浮细胞. 然后按实验设计, 每孔加入不同浓度的无血清药物. 各处理组所加药物浓度为MTT法计算所得0.1×IC_{50}. 分别于培养至12、24、36 h应用相差显微镜拍摄划痕边缘进展情况, 应用NIH图像处理软件分析细胞迁移程度.

统计学处理 应用SPSS16.0软件进行统计学分析, 计量资料数据以mean±SD表示, 组间比较采用单因素方差分析, 率的比较采用χ^2检验, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 E2F-1蛋白表达水平测定 以GAPDH为内参照, E2F-1-RNAi-LV组蛋白相对表达量相比对照组和正常组蛋白相对表达量分别减少了56.3%和58.5%(图1)(P<0.05), 差异有统计学意义.

2.2 E2F-1 mRNA水平测定 以GAPDH为内参照,

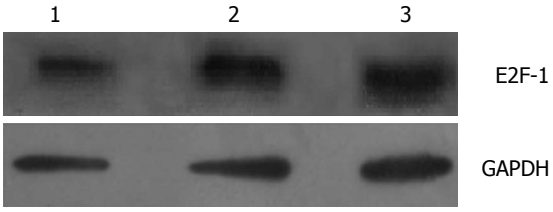


图 1 Western blot检测各组Cdx2蛋白的表达. 1: E2F-1-RNAi-LV组; 2: 阴性对照LV-RNAi组; 3: 空白对照组.

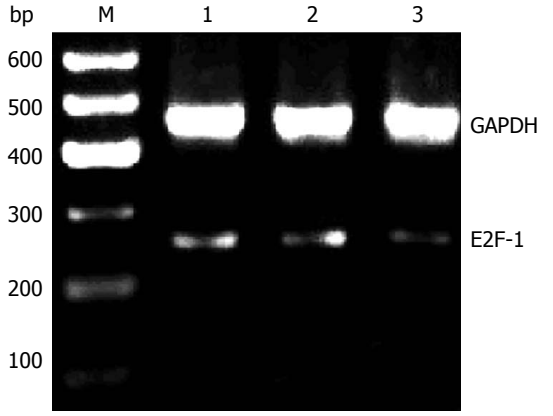


图 2 RT-PCR分析E2F-1 mRNA的表达水平. 1: 阴性对照LV-RNAi组; 2: 空白对照组; 3: E2F-1-RNAi-LV组.

E2F-1-RNAi-LV组mRNA相对表达量与对照组及正常组mRNA相对表达量相比抑制率均达到73%以上(图2)(P<0.05), 差异有统计学意义.

2.3 各组对MGC-803细胞增殖的影响比较 MTT法检测结果表明, 阴性对照组与E2F-1-RNAi-LV组均对MGC-803细胞有抑制作用, E2F-1-RNAi-LV组对细胞增殖抑制率明显高于阴性对照组和空白对照组(P<0.05), 差异有统计学意义; 阴性对照组与空白对照组比较(P>0.05), 差异无统计学意义(表2).

2.4 各组对MGC-803细胞克隆的影响比较 Giemsa染色法检测结果表明, 空白对照组、阴性对照组及E2F-1-RNAi-LV组均可抑制胃癌细胞克隆形成, 但各组细胞克隆形成数不相等, 经药物处理7 d后, E2F-1-RNAi-LV组的克隆形成率(2.40%±0.31%)与空白对照组(3.60%±0.43%)、阴性对照组(5.20%±0.24%)及正常组(5.20%±0.24%)比较, 差异有统计学意义(P<0.05); 空白对照组与阴性对照组比较(P>0.05), 差异无统计学意义(图3).

2.5 各组对MGC-803细胞凋亡的影响比较 流式细胞仪检测结果表明, 空白对照组、阴性对照组及E2F-1-RNAi-LV组均可促进胃癌细胞凋亡, 经药物处理48 h后, E2F-1-RNAi-LV组的细胞凋亡率(38.32%)与空白对照组(11.39%)、阴性对照组(8.97%)比较, 差异有统计学意义(P<0.05); 空白对照组与阴性对照组比较(P>0.05), 差异无统计学意义.

表 2 各组对MGC-803细胞抑制率的比较 (mean ± SD, n = 8)

分组	中药浓度(mg/mL)	mean ± SD(%)
E2F-1-RNAi-LV组	27.5	78.89 ± 1.32
阴性对照LV-RNAi组	27.5	48.40 ± 5.99[a]
空白对照组	27.5	45.34 ± 6.41[a]

[a]P<0.05 *vs* E2F-1-RNAi-LV组.

2.6 各组对MGC-803细胞迁移的影响比较 划痕实验检测结果表明, 空白对照组、阴性对照组及E2F-1-RNAi-LV组对细胞的迁移能力均有抑制作用; 经药物处理24、36 h后, E2F-1-RNAi-LV组细胞愈合率与同期空白对照组及阴性对照组比较(P<0.05), 差异有统计学意义; 空白对照组与阴性对照组比较(P>0.05), 差异无统计学意义(图4).

3 讨论

人参、黄芪、当归作为传统中药已有上千年的历史. 目前诸多中药里, 人参、黄芪、当归被证实对恶性肿瘤治疗有较明确的效果[3-5], 其作用机制可能与自身内部活性成分有关: (1)人参能通过Caspase 3介导促进细胞凋亡, 激活抑癌基因*p21*和*p27*的表达, 使细胞周期阻滞在G_0/G_1期[6]. 同时, 人参还可以明显促进Bax、Caspase 3 mRNA在细胞内的表达, 从而诱导凋亡, 抑制肿瘤细胞的生长[7,8]; (2)黄芪多糖可下调凋亡相关基因Bcl-2蛋白表达, 同时上调Bax蛋白表达, 从而诱导肿瘤细胞凋亡, 最终将细胞周期阻滞于G_0/G_1期[9]; (3)当归的丙酮提取物(AE-AS)有显著抗增殖作用, 其抗增殖机制主要是通过抑制凋亡相关基因*Bcl-2*以及周期蛋白依赖性激酶CDK4的表达, 使肿瘤细胞阻滞在细胞周期的R限制点, 不能进入S期, 最终促进肿瘤细胞的凋亡[10]. 以上提示中药人参黄芪复方可通过诱导凋亡相关基因的表达, 从而达到杀伤肿瘤细胞的作用.

本研究结果显示, 单独应用中药人参黄芪复方药物可以抑制胃癌细胞增殖、克隆形成及迁移, 促进胃癌细胞凋亡. *E2F-1*基因沉默后再经中药人参黄芪复方处理, 其抑制细胞增殖、克隆形成、促进细胞凋亡和抑制细胞迁移能力显

■应用要点

*E2F-1*基因沉默后, 人胃癌细胞对中药人参黄芪复方的敏感性显著增加, 诱导肿瘤细胞凋亡、抑制细胞增殖、抑制细胞克隆形成并抑制细胞迁移能力, 提示*E2F-1*基因沉默提高胃癌对中药抗肿瘤成分的药物敏感性具有一定价值, 但其具体机制尚不清楚. 因此, 我们将进一步的深入研究探讨其可能的作用机制.

■同行评价
本文有助于阐明中药治疗肿瘤的减毒增效的机理, 具有重要的理论和临床借鉴意义.

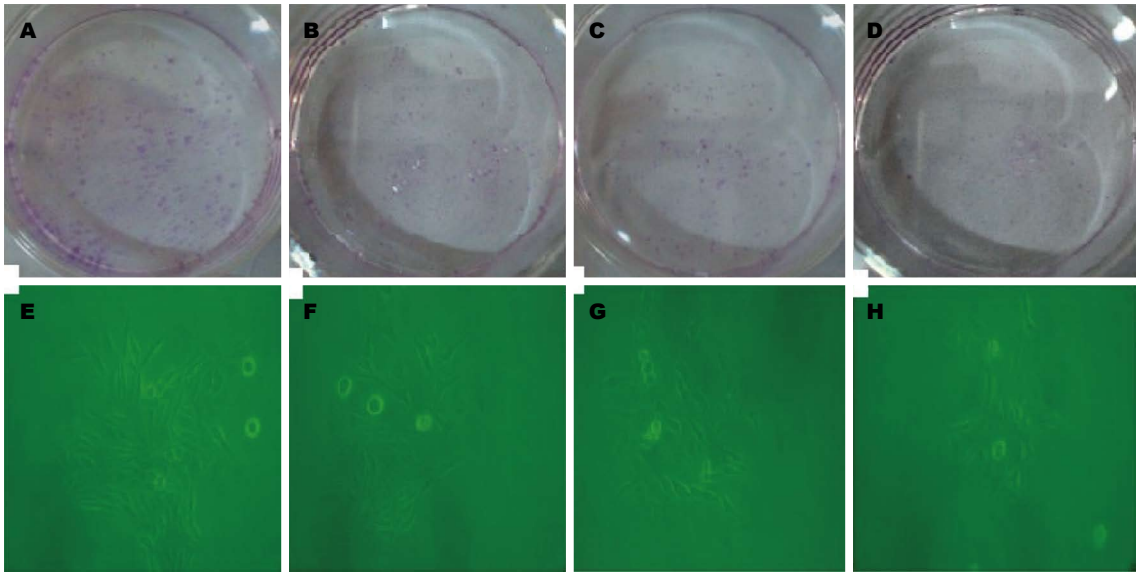


图 3 各组对MGC-803细胞克隆形成的影响比较(Giemsa染色, ×5). A, E: 正常组; B, F: 空白对照组; C, G: 阴性对照LV-RNAi组; D, H: E2F-1-RNAi-LV组.

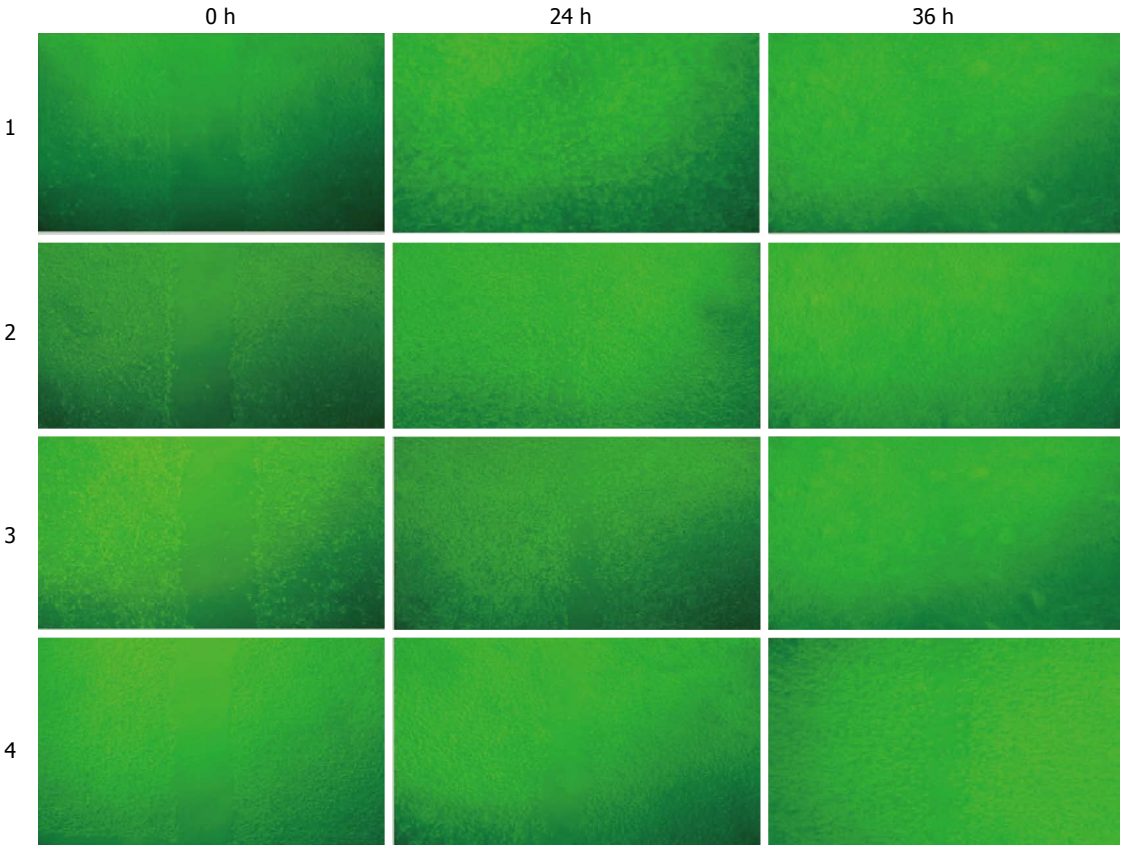


图 4 各组24、36 h时对MGC-803细胞迁移的影响(结晶紫染色, ×5). 1: 正常组; 2: 空白对照组; 3: LV-RNAi组; 4: E2F-1-RNAi-LV组.

著提高. 提示*E2F-1*基因沉默可以明显提高胃癌细胞对中药人参黄芪复方药物抗肿瘤的敏感性, 但其机制有待进一步明确.

我们前期研究显示: E2F-1沉默可使凋亡相关基因*PTEN*、*Caspase 3*、*Caspase 9*表达上调, 从而在体内及体外环境下均可明显抑制胃癌细胞生长, 使细胞周期阻滞于G_0/G_1期, 凋亡率显著提高, 胃癌细胞迁移、侵袭能力明显减弱[11,12]. 同时最新研究还发现, *Caspase 3*、*PTEN*基因表达上调可明显抑制细胞内药物外排介质P-糖蛋

白(P-glycoprotein, P-gp)及细胞内药物外排转运蛋白MRP1的表达, 减少细胞内药物外排, 提高细胞内化疗药物浓度, 从而增加肿瘤对化疗药物的敏感性[13,14]. 而*Caspase 3*、*Caspase 9*等相关凋亡基因的表达上调也是中药人参黄芪复方抗肿瘤作用机制之一[6,15]. 提示*E2F-1*基因沉默提高胃癌细胞对中药人参黄芪复方的敏感性可能是通过*E2F-1*基因沉默增加Caspase 3、PTEN的表达, 间接使药物泵出细胞外减少, 使细胞内的药物有效浓度提高, 从而增强人胃癌细胞对中药人参黄芪复方药物敏感性.

总之, *E2F-1*基因下调和中药人参黄芪复方抗肿瘤两者具有协同作用, 沉默*E2F-1*可有效增强中药抗肿瘤活性成分的药理作用, 从而提高人胃癌细胞对中药人参黄芪复方药物敏感性, 但其具体机制尚不明确. 我们将会在未来的研究中进一步探讨其可能的作用机制.

4 参考文献

1 檀碧波, 李勇, 范立侨, 赵群, 刘羽, 赵雪峰. 胃癌凋亡相关蛋白Surivivn、B淋巴细胞/白血病-2、bax表达与肿瘤细胞体外化疗敏感性的关系. 中华实验外科杂志 2012, 29: 1315-1317

2 王晓通, 钱倩, 李雷, 谢玉波, 肖强. RNA干扰介导的转录因子E2F-1沉默对人胃癌裸鼠移植瘤生长的影响. 中华实验外科杂志 2011; 28: 340-342

3 刘桂莲, 张承玉, 刘晓霓, 李丽, 郑学芝. 黄芪多糖对人胃癌SGC-7901细胞增殖抑制作用的体外研究. 中国实用医药杂志 2007; 2: 8-9

4 王艳. 人参皂甙Rg3对人肺腺癌细胞株抗肿瘤作用及相关机理的研究. 黑龙江中医药大学, 2011

5 陈曦, 曹蔚, 孙阳, 梅其炳. 当归多糖APS 2bⅡ的结构特征及体外抗肿瘤作用. 科学技术与工程 2010; 3: 1839-1843

6 Liu WK, Xu SX, Che CT. Anti-proliferative effect of ginseng saponins on human prostate cancer cell line. *Life Sci* 2000; 67: 1297-1306 [PMID: 10972198 DOI: 10.1016/S0024-3205(00)00720-7]

7 Li B, Wang CZ, He TC, Yuan CS, Du W. Antioxidants potentiate American ginseng-induced killing of colorectal cancer cells. *Cancer Lett* 2010; 289: 62-70 [PMID: 19716228 DOI: 10.1016/j.canlet.2009.08.002]

8 赵保胜, 刘洋, 徐暾海. 人参皂苷Rg1对人胃癌BGC-823的抑制作用研究. 中国临床药理学与治疗学 2011; 6: 361-365

9 黄惠凤, 钱建业, 谢少茹. 黄芪多糖对人胃癌细胞MKN45诱导凋亡和细胞周期的影响. 实用临床医药杂志 2010; 14: 17-20

10 Cheng YL, Chang WL, Lee SC, Liu YG, Chen CJ, Lin SZ, Tsai NM, Yu DS, Yen CY, Harn HJ. Acetone extract of Angelica sinensis inhibits proliferation of human cancer cells via inducing cell cycle arrest and apoptosis. *Life Sci* 2004; 75: 1579-1594 [PMID: 15261763 DOI: 10.1016/j.lfs.2004.03.009]

11 Xie Y, Yin Y, Li L, Ma Y, Xiao Q. Short interfering RNA directed against the E2F-1 gene suppressing gastric cancer progression in vitro. *Oncol Rep* 2009; 21: 1345-1353 [PMID: 19360313 DOI: 10.3892/or_00000360]

12 Wang XT, Xie YB, Xiao Q. Lentivirus-mediated RNA interference targeting E2F-1 inhibits human gastric cancer MGC-803 cell growth in vivo. *Exp Mol Med* 2011; 43: 638-645 [PMID: 21869593 DOI: 10.3858/emm.2011.43.11.072]

13 Cappellini A, Chiarini F, Ognibene A, McCubrey JA, Martelli AM. The cyclin-dependent kinase inhibitor roscovitine and the nucleoside analog sangivamycin induce apoptosis in caspase-3 deficient breast cancer cells independent of caspase mediated P-glycoprotein cleavage: implications for therapy of drug resistant breast cancers. *Cell Cycle* 2009; 8: 1421-1425 [PMID: 19342873 DOI: 10.4161/cc.8.9.8323]

14 Sherbakova EA, Stromskaia TP, Rybalkina EIu, Kalita OV, Stavrovskaia AA. [Role of PTEN protein in multidrug resistance of prostate cancer cells]. *Mol Biol* (Mosk) 2008; 42: 487-493 [PMID: 18702307]

15 Cho SH, Chung KS, Choi JH, Kim DH, Lee KT. Compound K, a metabolite of ginseng saponin, induces apoptosis via caspase-8-dependent pathway in HL-60 human leukemia cells. *BMC Cancer* 2009; 9: 449 [PMID: 20017956 DOI: 10.1186/1471-2407-9-449]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2013年6月18日; 21(17): 1642-1648
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

肠上皮细胞来源的整合素αVβ6对肠道树突状细胞TGF–β1表达的影响

李 凯, 郑鹏远, 刘志强, 陈东晖

■背景资料
近年来, 食物过敏(food allergy, FA)的发病率逐年增高. 研究显示, FA是以肠道口服耐受受损和Th2极化为特征的免疫反应. 耐受性树突状细胞(tolerance dendritic cell, TolDC)在调节性T细胞的产生和口服耐受中起关键作用, 而转化生长因子β1(transforming growth factor-β1, TGF-β1)在维持树突状细胞(dendritic cell, DC)耐受表型中起重要作用. 整合素αVβ6可促使TGF-β活化.

李凯, 郑鹏远, 刘志强, 陈东晖, 郑州大学第二附属医院消化内科 郑州大学医学微生态学研究所 河南省郑州市 450014
李凯, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的相关研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 31070799
作者贡献分布: 李凯与郑鹏远对此文贡献均等; 此课题由李凯与郑鹏远设计; 研究过程由李凯完成; 研究所用试剂和分析工具由郑鹏远提供; 数据分析由李凯与陈东晖完成; 本论文写作由李凯、郑鹏远及刘志强完成.
通讯作者: 郑鹏远, 教授, 主任医师, 博士生导师, 450014, 河南省郑州市经八路2号, 郑州大学第二附属医院消化内科, 郑州大学医学微生态研究所. medp7123@126.com
电话: 0371-63921567 传真: 0371-63934118
收稿日期: 2013-04-03 修回日期: 2013-04-24
接受日期: 2013-05-12 在线出版日期: 2013-06-18

Influence of intestinal epithelial integrin αVβ6 on TGF-β1 expression in intestinal dendritic cells

Kai Li, Peng-Yuan Zheng, Zhi-Qiang Liu, Dong-Hui Chen

Kai Li, Peng-Yuan Zheng, Zhi-Qiang Liu, Dong-Hui Chen, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Zhengzhou University; Institute of Medical Microecology, Zhengzhou University, Zhengzhou 450014, Henan Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 31070799
Correspondence to: Peng-Yuan Zheng, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Zhengzhou University; Institute of Medical Microecology, Zhengzhou University, 2 Jingba Road, Zhengzhou 450014, Henan Province, China. medp7l23@126.com
Received: 2013-04-03 Revised: 2013-04-24
Accepted: 2013-05-12 Published online: 2013-06-18

Abstract

AIM: To determine the role of intestinal epithelial integrin αVβ6 in the generation of intestinal tolerogenic dendritic cell (TolDC).

METHODS: Thirty Balb/c male mice were randomly divided into three groups: a blank control group, an ovalbumin (OVA) group, and an OVA + αVβ6 antibody group. Lamina propria mononuclear cells (LPMCs) of the jejunum and $CD11c^+$ and $TGF\text{-}\beta1^+$ DCs were isolated by flow cytometry. Distribution of $CD11c^+$ DCs and TolDC ($CD11c^+$ $TGF\text{-}\beta1^+$) in the jejunum was detected by double immunofluorescence. Transforming growth factor-β1 (TGF-β1) protein level was determined by Western bolt.

RESULTS: Compared to the blank control group, the number of $TGF\text{-}\beta1^+$ DCs in LPMC in the intestine mucosa significantly increased in the OVA group ($P < 0.05$); however, the number of intestinal $TGF\text{-}\beta1^+$ DCs significantly decreased in the OVA + αVβ6 antibody group compared to the OVA group ($P < 0.05$). TolDC cell count in the OVA group was significantly higher than that in the blank control group (13.0 ± 1.76 *vs* 4.9 ± 1.66, $P < 0.05$), while $CD11c^+$ DC cell count was significantly lower in the OVA group than in the blank control group (5.0 ± 1.83 *vs* 8.1 ± 1.91, $P < 0.05$). TolDC and $CD11c^+$ DC cell counts showed no significant differences between the OVA + anti αVβ6 antibody group and the blank control group (3.2 ± 1.37 *vs* 4.9 ± 1.66, $P > 0.05$; 11.0 ± 2.16 *vs* 8.1 ± 1.91, $P > 0.05$). Compared to the blank control group, TGF-β1 expression was significantly increased in the OVA group (0.129 ± 0.069 *vs* 0.236 ± 0.049, $P < 0.05$); however, TGF-β1 expression was significantly lower in the OVA + αVβ6 antibody group than in the OVA group (0.174 ± 0.075 *vs* 0.236 ± 0.049, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Intestinal epithelial integrin αVβ6 is necessary to increase TGF-β1 expression in DCs and turn DCs into TolDC, thus playing an important role in intestinal immune tolerance.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: CD11c; Transforming growth factor-β1; Dendritic cells; Integrin αVβ6

Li K, Zheng PY, Liu ZQ, Chen DH. Influence of intestinal epithelial integrin αVβ6 on TGF-β1 expression in intestinal dendritic cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(17): 1642-1648 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1642.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i17.1642

■同行评议者
马欣, 主任医师, 甘肃省人民医院消化科

摘要

目的: 肠上皮细胞(intestinal epithelial cells, IEC)来源的整合素αVβ6在肠道耐受性树突状细胞(tolerance dendritic cell, TolDC)生成中的机制研究.

方法: Balb/c ♂小鼠30只, 随机分为3组: 空白对照组、卵清蛋白(ovalbumin, OVA)组、OVA+抗αVβ6抗体组. 取空肠分离固有层单核细胞(lamia propria mononuclear cells, LPMC)流式细胞仪测定CD11c$^+$与转化生长因子β1$^+$(transforming growth factor-β1$^+$, TGF-β1$^+$)的比率变化. 免疫荧光双染(immunofluorescence double staining, IF)检测空肠CD11c$^+$与TGF-β1$^+$分布情况. Western bolt法测定TGF-β1蛋白水平变化.

结果: 流式细胞仪测定结果显示: 与空白对照组相比, OVA组肠道LPMC中的TGF-β1$^+$明显增加(P<0.05), 而OVA+抗αVβ6抗体组TGF-β1+明显降低(P<0.05). 与OVA组相比, OVA+抗αVβ6抗体组TGF-β1$^+$明显降低(P<0.05). 免疫荧光双染法显示: OVA组中TolDC细胞计数为(13.0±1.76), 较空白对照组(4.9±1.66)显著增加(P<0.01), 该组中CD11c$^+$ DC细胞计数(5.0±1.83), 较空白对照组(8.1±1.91)显著减少(P<0.01); OVA+抗αVβ6抗体组中TolDC细胞计数为(3.2±1.37), 较空白对照组(4.9±1.66)无明显变化(P>0.01), 该组中CD11c$^+$ DC细胞计数(11.0±2.16), 较空白对照组(8.1±1.91)无明显变化(P>0.01). Western bolt结果显示: 与空白对照组相比(0.129±0.069), OVA组(0.236±0.049)TGF-β1表达显著增高, 差异有统计学意义(P<0.05); OVA+抗αVβ6抗体组(0.174±0.075)表达也降低, 差异有统计学意义(P<0.05). 与OVA组相比, OVA+抗αVβ6抗体组(0.174±0.075)TGF-β1表达显著降低, 差异有统计学意义(P<0.05).

结论: 肠上皮来源整合素αVβ6能够增加树突状细胞(dendritic cell, DC)中TGF-β1的表达, 并使其转变为TolDC, 从而在肠道免疫耐受中起重要作用.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: CD11c; **转化生长因子β; 树突状细胞; 整合素αVβ6**

核心提示: 肠上皮来源整合素αVβ6能够增加树突状细胞(dendritic cell)中转化生长因子-β1的表达, 并使其转变为耐受性树突状细胞(tolerance dendritic cell), 从而在肠道免疫耐受中起重要作用.

李凯, 郑鹏远, 刘志强, 陈东晖. 肠上皮细胞来源的整合素αVβ6对肠道树突状细胞TGF-β1表达的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(17): 1642-1648 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1642.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i17.1642

0 引言

近年来, 食物过敏(food allergy, FA)的发病率逐年增高, 已经成为了严重影响人类健康的全球性问题, 有研究显示, 儿童发病率约4%-8%, 成人为3%-4%[1]. 目前还没有有效的治疗措施能够避免FA的发生[2], 虽然有关FA领域的研究进展迅速, 然而其发病机制仍不清楚.

研究显示, FA是以肠道口服耐受受损和Th2极化为特征的免疫反应, 主要分为IgE介导的和非IgE介导的反应[3]. 口服耐受是通过口服抗原后诱导机体对该抗原的免疫低反应性, 其可能的机制涉及到克隆清除、克隆无能或诱导调节性T细胞(T regulatory cell, Treg)产生及其调节作用. 针对食物抗原的口服耐受机制失常在将导致肠道发生Th2型过敏反应. 研究显示, 耐受性树突状细胞(tolerance dendritic cell, TolDC)在Treg产生和口服耐受中起关键作用, 能够启动机体免疫反应及维持免疫耐受性[4-6], 其高表达白介素-10(interleukin-10, IL-10)、转化生长因子-β(transforming growth factor-β, TGF-β), 低表达MHC Ⅱ类和共刺激分子, 通过诱导Foxp3$^+$ Treg来抑制免疫反应. 然而, 目前为止, 有关肠道TolDC的产生机制仍不清楚. 研究显示, 正常肠上皮细胞(intestinal epithelial cells, IEC)促进肠道TolDC和Treg细胞的分化[7-9], 并能够增加树突状细胞(dendritic cell, DC)细胞表达TGF-β. TGF-β有3个亚型TGF-β1、TGF-β2和TGF-β3, 3者之间具有较高的同源性, 且功能相近, 对细胞的生长、分化和免疫功能都有重要的调节作用. 研究显示, TGF-β在TolDC的分化产生中起重要作用[10], 然而TGF-β是如何使DC转变为TolDC的机制有待进一步研究. 整合素是由24个结构不同的二聚体构成, 含α和β亚基的细胞受体, 主要是介导细胞-细胞和细胞-细胞外基质间相互作用[11]. αVβ6可结合在非活化(latent form)TGF-β的羧基末端的氨基酸序列上[12,13], 从而使TGF-β与其受体结合, 并进一步形成活化TGF-β. 卵清蛋白(ovalbumin, OVA)因具有可靠抗原性而用于食物耐受模型的建立及FA小鼠模型的研究, 我们既往研究中, 通过给予小鼠

■研发前沿
整合素αVβ6是整合素αV亚家族的一种, 其可结合在羧基末端的精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸序列上, 从而使TGF-β更易于与其受体结合并进一步形成活化TGF-β. 肠道上皮细胞来源外泌体中含有整合素αVβ6及食物抗原, 能够增加骨髓来源DC中TGF-β的表达, 并使之转变为TolDC, 但整合素αVβ6在肠道TolDC产生是否具有重要作用仍有待进一步研究.

■相关报道
卵巢癌中TGF-β1水平增加, 而整合素αVβ6在TGF-β1的活化中起着作用, 如果整合素αVβ6被抗体所阻断, 那么TGF-β1将不能激活癌细胞. 也有研究显示肠上皮细胞来源外泌体中有整合素αVβ6的表达, 在肠道中食物抗原的协同作用下, 能够诱导肠道黏膜中分泌TGF-β1的TolDC产生.

OVA和佐剂建立了经典的小鼠肠道OVA过敏模型[14]. 另有研究显示, 通过灌胃只给予OVA则能够诱导建立小鼠肠道食物抗原耐受模型[15], 其机制有待进一步研究. 我们既往通过体外细胞培养实验研究显示, 肠道上皮细胞来源外泌体中含有整合素αVβ6及食物抗原, 能够增加骨髓来源DC中TGF-β的表达, 并使之转变为TolDC[16], 但整合素αVβ6在肠道TolDC产生中是否具有重要作用仍有待进一步研究.

本研究中, 我们将通过体内试验, 首先建立小鼠OVA耐受模型, 并进一步通过抗整合素αVβ6干预, 评价肠道黏膜TolDC的产生. 抗αVβ6抗体能够阻断OVA耐受小鼠肠道中TolDC的产生. 肠上皮来源整合素αVβ6能够增加DC中TGF-β1的表达, 并使其转变为TolDC, 从而在肠道免疫耐受中起重要作用, 本研究为FA性疾病发病机制的研究提供了新的理论依据.

1 材料和方法

1.1 材料 卵清蛋白、抗小鼠αVβ6、DNase Ⅰ酶(美国Sigma公司) , collagenase Ⅳ酶(Roche公司)和dispase Ⅱ酶(Roche公司), FITC-抗CD11c(BioLegend公司), PE-抗小鼠TGF-β1(美国ebioscience公司), 蛋白提取试剂(北京鼎国), TGF-β1(Santa cruz), Hrp标记二抗(北京中山生物技术有限公司). Balb/c小鼠购自北京维通利华实验动物技术有限公司[合格证号SCXK(京)2007-0001], 在清洁无抗原及微生物环境下饲养, 实验经郑州大学动物伦理委员会批准.

1.2 方法

1.2.1 动物模型的建立: ♂ Balb/c小鼠30只, 6-8周龄, 随机分为3组, 每组10只: 空白对照组(A组)、OVA组(B组)、OVA+抗αVβ6抗体组(C组). B组每只小鼠给予1 mg OVA(溶于0.3 mL生理盐水), 于第0、1、2、3天灌胃, 第7、9、13天再次给予1 mg OVA灌胃进行激发. A组只给予等体积的生理盐水(NS)进行灌胃及激发, 作为空白对照. C组小鼠在第7、9、13天每次给予1 mg OVA灌胃进行激发前30 min腹腔注射抗αVβ6抗体(10 μg溶于0.3 mL NS).

1.2.2 肠道固有层单个核细胞的分离: 无菌取小鼠空肠组织, PBS冲洗3次, 剪成长约1 cm的组织片段, 经PBS再次冲洗, 置于含有5 mmol/L EDTA和1 mmol/L DTT的PBS中室温振荡孵育20 min. 100 μm滤网过滤, 然后将组织置消化溶液(0.05% Ⅳ胶原酶, 0.05%DNase Ⅰ和0.03%中性胶原酶)消化20 min. 40 μm滤网过滤, 重复冲洗2次. 40/80 Percoll梯度离心, 分离的LPMC培养过夜[17].

1.2.3 免疫磁珠法进行细胞分选及流式细胞仪检测: 各组小鼠肠道固有层单个核细胞分离后, 经密度梯度离心去除死细胞, 过滤成单细胞悬液, 300 *g*×10 min离心收集细胞, 加入经抗CD11c抗体包被的免疫磁珠10 μL, 混匀, 冰上孵育15 min, 离心重悬细胞. 把MS型细胞分选柱放入MACS分选架, 加入500 μL缓冲液冲洗分选柱, 然后加入细胞悬液, 收集流出细胞悬液, 待液体流干后, 加入500 μL缓冲液冲洗共3次, 收集的细胞为免疫磁珠非结合细胞部分. 把分选柱转移出磁场, 加入500 μL缓冲液后, 迅速把与免疫磁珠结合的细胞推出, 收集后的细胞为CD11c阳性DC细胞. PBS液重悬细胞, 调整细胞浓度至1×10^6/mL. 将PE标记的抗小鼠CD11c 0.2 μL、FITC标记的抗小鼠TGF-β 0.2 μL加入细胞悬液, 冰上染色30 min, PBS洗涤2次, PBS重悬细胞后过滤网, 流式细胞仪检测.

1.2.4 免疫荧光步骤: 迅速取各组小鼠空肠组织放入福尔马林固定液固定4 h. 制备组织石蜡切片, 切片脱蜡至水, PBS洗3次, 柠檬酸抗原修复10 min, 自然冷却, PBS浸泡, 3%H_2O_2封闭内源性过氧化物酶, 室温20 min, PBS浸泡, 滴加山羊血清50 μL/片,室温封闭内源性生物20 min, 甩除勿洗, 滴加一抗(CD11c, TGF-β1)100 μL/片, 4 ℃过夜, PBS浸泡, 滴加TRITC标记二抗(羊抗兔), 37 ℃孵育2 h, PBS浸泡, DAPI复染胞核, PBS浸泡, 荧光显微镜下采集图像.

1.2.5 Western blot检测细胞中TGF-β1蛋白表达: 按蛋白提取试剂盒提取各组分离的肠道LPMC中CD11c阳性细胞的总蛋白, Bradford法对蛋白样品进行定量. 取出30 μg蛋白经过煮沸变性后进行SDS-PAGE凝胶电泳并转至硝酸纤维膜上, 脱脂牛奶于4 ℃封闭过夜后, 分别用TGF-β1抗体4 ℃孵育过夜, 然后加入辣根过氧化物酶标记的山羊抗小鼠IgG抗体(1∶10000)室温2 h, 最后加ECL发光剂于暗室充分反应后用胶片曝光, 蛋白含量用每组样本所测得的TGF-β1蛋白灰度值与对应的β-actin蛋白的灰度值的比值表示.

统计学处理 实验数据均以mean±SD表示, 采用SPSS17.0统计软件包进行分析, 单因素方差分析比较各组间有无统计学差异, 采用$\alpha = 0.05$为假设检验标准.

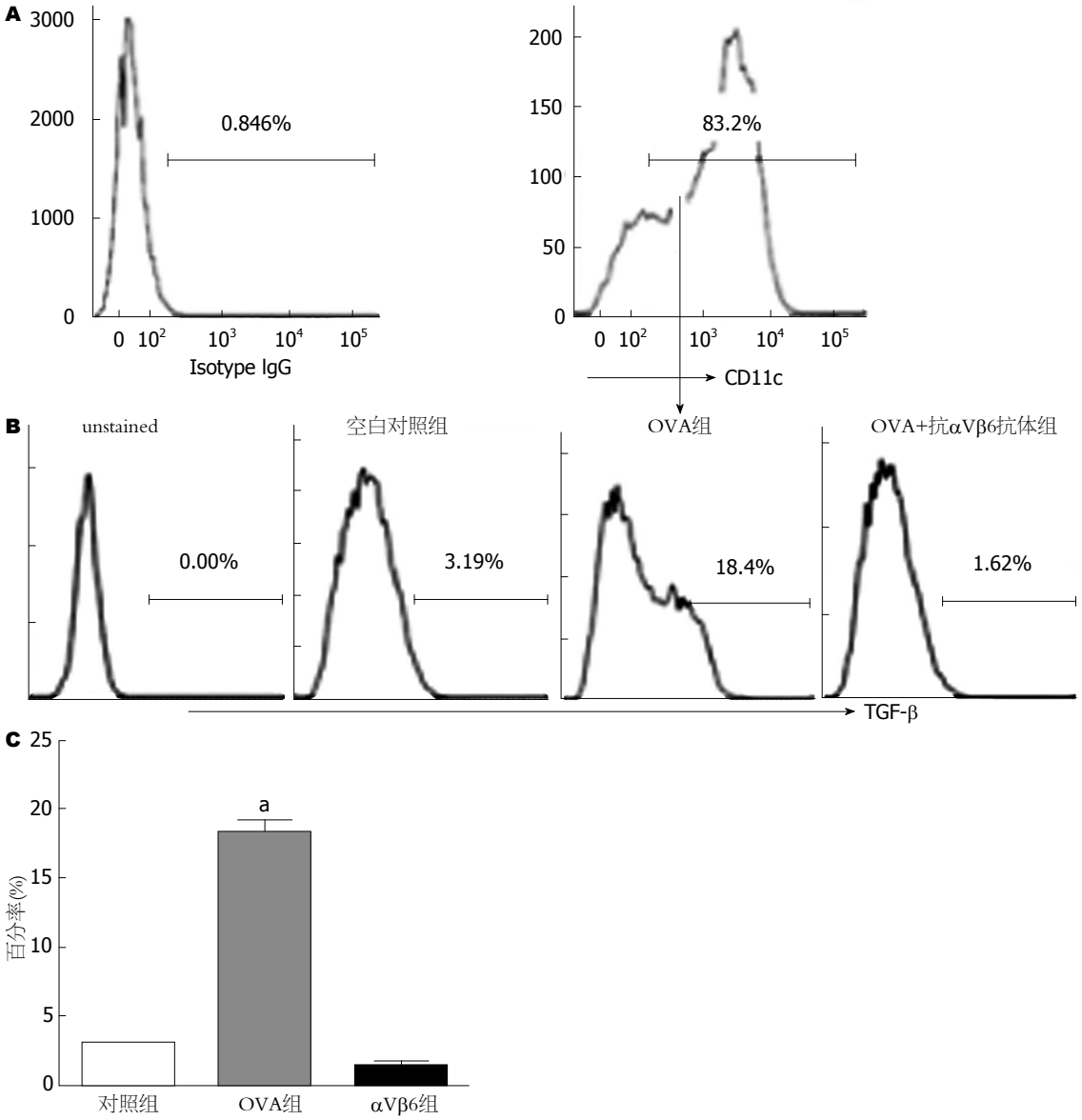


图 1 小鼠肠道黏膜DC细胞中TGF-β1表达. A: 各组肠道黏膜LPMC来源CD11c阳性细胞用于进一步分析; B: 各组CD11c阳性细胞中TGF-β1表达阳性细胞比率; C: 各组小鼠肠道LPMC来源细胞中CD11c、TGF-β1双阳性细胞的百分率(n = 10). [a]P<0.05 *vs* αVβ6组. LPMC: 空肠分离固有层单核细胞; TGF-β1: 转化生长因子β1; OVA: 卵清蛋白.

■**创新盘点**
本研究通过动物实验, 探讨肠上皮细胞来源的整合素αVβ6在肠道中TolDC产生中的作用.

2 结果

2.1 αVβ6抗体阻断能够减少肠道DC中TGF-β1的表达 分离各组小鼠肠道LPMC, 免疫磁珠分选肠道DC细胞, 流式细胞仪分析, 结果显示, OVA组肠道中CD11c$^+$TGF-β1$^+$表达量为(18.400±0.835), 较空白对照组(3.190±0.069)明显增加(P<0.05), 而OVA+抗αVβ6抗体组CD11c$^+$TGF-β1$^+$表达量为(1.620±0.109), 较空白照组(3.190±0.069)明显降低(P<0.05). OVA+抗αVβ6抗体组中CD11c$^+$ TGF-β1$^+$表达量为(1.620±0.109), 较OVA组(18.400±0.835)明显降低(P<0.05). 提示αVβ6抗体阻断能够减少肠道DC中TGF-β1的表达(图1).

2.2 αVβ6抗体阻断导致肠道TolDC细胞数量较少 颈椎脱臼法处死小鼠, 立即取小鼠空肠组织, 福尔马林固定制作组织切片, 经抗经CD11c和抗TGF-β1抗体染色, 荧光纤维镜观察染色阳性细胞. 观察到CD11c$^+$ DC细胞被染成绿色, TolDC细胞被染成棕黄色, 每只小鼠肠道黏膜组织随机取20个视野在高倍镜下观察计数阳性细胞数目并求平均值(图2).

空白对照组(图2C)TolDC细胞数为(4.9±1.66), CD11c$^+$ DC细胞数(8.1±1.91). 与空白对照组相比OVA组(图2D)TolDC细胞(13.0±1.76)数明显增多(P<0.01), 而CD11c$^+$ DC细胞(5.0±1.83)明显减少(P<0.01); 与空白对照组相比, OVA+

■应用要点
整合素αVβ6的功能之一就是从TGF-β1分子上游离隐性相关肽, 使活化的TGF-β1增加, 活化的TGF-β1可以促使TolDC细胞的分化, 分化的TolDC可抑制过敏性免疫反应, 诱导机体免疫耐受恢复, 并改善过敏症状. 因此, 通过增强αVβ6分子靶点而改善TolDC分化的治疗FA是一个很好方向.

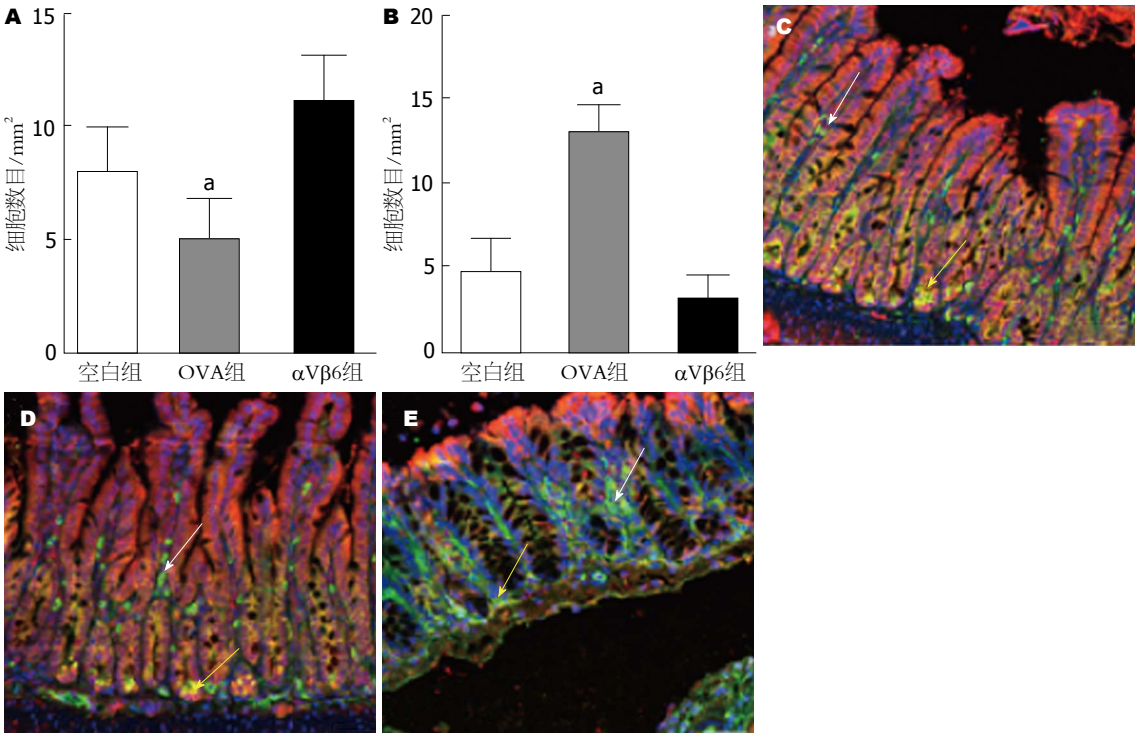


图 2 肠道细胞数量变化. A: $CD11c^+$细胞数目变化情况(n = 10); B: TolDC细胞数目变化情况(n = 10); C-E: 肠道TolDC细胞数量变化(×400); C: 对照组; D: OVA组; E: OVA+αvβ6组. 白色箭头表示$CD11c^+$ DC细胞, 黄色箭头表示TolDC细胞($CD11c^+$ TGF-$β1^+$). ^aP<0. 05 *vs* αVβ6组. OVA: 卵清蛋白; TolDC: 耐受性树突状细胞; TGF-β1: 转化生长因子β1.

表 1 3组中TolDC细胞和$CD11c^+$ DC细胞数目 (mean ± SD)

	空白对照组	OVA组	OVA+抗αVβ6抗体组	*F*值
$CD11c^+TGF-β1^+$	4.9 ± 1.66	13.0 ± 1.76[b]	3.2 ± 1.73[d]	108.092
$CD11c^+$DC细胞	8.1 ± 1.91	5.0 ± 1.82[b]	11.0 ± 2.16[d]	23.273

^bP<0.01, ^dP>0.01 *vs* 空白对照组. OVA: 卵清蛋白; TolDC: 耐受性树突状细胞; TGF-β1: 转化生长因子β1.

抗αVβ6抗体组(图2E)TolDC细胞(3.2±1.37)无明显变化(P>0.01), $CD11c^+$ DC细胞(11.0±2.16)无明显变化(P>0.01). 提示OVA可促进$CD11c^+$ DC细胞向TolDC细胞转化, 但是该转化可被抗αVβ6抗体阻断(表1).

2.3 抗αVβ6抗体干预后, 肠道DC细胞中TGF-β1蛋白表达量明显下降 取分离的各组小鼠肠道LPMC, 免疫磁珠分离CD11c阳性细胞并提取总蛋白, Western blot分析TGF-β1蛋白表达量. 经OVA激发后, 该组肠道DC细胞中TGF-β1蛋白表达量(0.236±0.049), 较空白对照组(0.129±0.069)明显增加(P<0.05), 而OVA+抗αVβ6抗体组中TGF-β1蛋白表达量(0.174±0.075), 较OVA组(0.236±0.049)明显减少(P<0.05)(图3).

3 讨论

在过去的几十年里, 过敏性疾病的发病率显著增加, 已经形成比较严重的健康问题. 人们普遍认为, 肠溶微生物参与胃肠道中的多种生理功能的调节, 包括竞争与减少病原体定植, 促进不易消化物质的降解, 促进短链脂肪酸、叶酸和维生素的产生, 刺激肠上皮细胞的代谢以及黏膜免疫的形成[18-20]. 许多免疫活性细胞参与过敏性疾病的发生发展: Th2细胞极化、DC激活、Treg、效应性$CD4^+$和CD8细胞等. Treg活性丧失很可能在打破口服耐受和进而发生的FA中起重要作用, 而TolDC在Treg产生和口服耐受中起关键作用[21]. 与身体其他器官相比, 肠道固有层拥有更多的TolDC, IEC在该细胞产生过程中具有

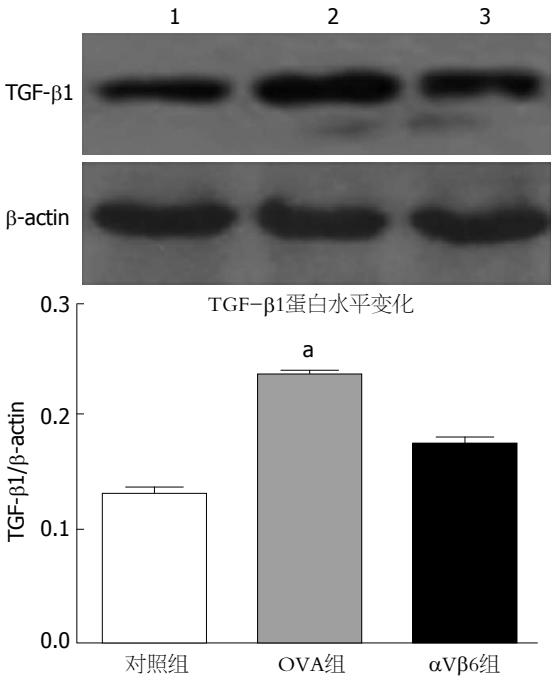


图 3 各组小鼠肠道DC细胞中TGF-β1的表达量. 1: 对照组; 2: OVA组; 3: OVA+αvβ6组. $^{a}P<0.05$ *vs* αvβ6组. OVA: 卵清蛋白; DC: 树突状细胞; TGF-β1: 转化生长因子β1.

重要作用, 而TolDC能够使肠道针对食物抗原保持免疫耐受状态.

TGF-β作为二聚体多肽生长因子家族的成员, 参与细胞功能调节、增殖、分化和迁移. 在TGF-β已知的3个异构体(TGF-β1、TGF-β2和TGF-β3)中, TGF-β1主要在免疫系统中表达, TGF-β1主要与其受体结合来调节免疫功能, 以非活化的状态存在, 被激活后才能发挥其潜在的复杂的生物学作用. 正常IEC能够促使非活化TGF-β1高表达在DC的表面. 当小鼠摄入蛋白质抗原时, 整合素αVβ6在IEC中表达量上升. 在本实验中通过OVA灌胃, 诱导小鼠产生口服免疫耐受, 分离小肠空肠LPMC, 经免疫磁珠进一步纯化DC, 流式细胞仪分析DC中TGF-β1的表达显示: OVA组中TGF-β1的表达量显著上升, 而经过抗αVβ6抗体的拮抗后TGF-β1表达量显著下降.

体外培养IEC, 经食物抗原刺激后, IEC中αVβ6的表达量增加; 体外得到的外泌体经食物抗原刺激后, 能够携带αVβ6和抗原, 并可被DC捕获. 本研究发现小鼠经OVA刺激后, 空肠组织免疫荧光发现TolDC的表达数量增加, 而使用αVβ6抗体拮抗后, 其数量明显降低, 没有接受抗原刺激的空白组则没有变化, 说明食物抗原诱导免疫耐受的产生. 另外小鼠经OVA刺激后, TGF-β1蛋白表达增加; 经抗αVβ6抗体干预后, TGF-β1表达下降, 提示αVβ6能够促进TGF-β1活化. 最近研究表明DC的CD103的上调需要上皮衍生转化生长因子TGF-β和视黄酸, 上皮细胞来源的DC反过来可以诱导分化适应肠道环境Foxp3^{+} Treg细胞[22,23]. 另有研究表明肠上皮细胞来源外泌体中有整合素αVβ6的表达, 在肠道中食物抗原的协同作用下, 能够诱导肠道黏膜中分泌TGF-β1的TolDC产生, 进而促使Treg细胞产生TGF-β1[24].

肠道是表面积最大的免疫器官, 而IEC处于机体与外界抗原接触的第一线, 表面表达一系列表面分子, 通过限制肠腔细菌和食物过敏原的穿透, 在维护肠道内环境稳定中起着至关重要的作用. 我们实验结果提示IEC来源的αVβ6在肠道TolDC产生中可能具有关键作用. 整合素αVβ6的功能之一就是从TGF-β1分子上游离隐性相关肽, 使活化的TGF-β1增加, 活化的TGF-β1可以促使TolDC细胞的分化. 分化的TolDC可抑制过敏性免疫反应, 并改善其相应的过敏症状.

■同行评价
本文条理分明, 有系统的理论分析和有价值的科学结论, 较好的反映了我国基础研究的先进水平.

4 参考文献

1 Rachid R, Umetsu DT. Immunological mechanisms for desensitization and tolerance in food allergy. *Semin Immunopathol* 2012; 34: 689-702 [PMID: 22821087 DOI: 10.1007/s00281-012-0333-9]
2 Khoriaty E, Umetsu DT. Oral immunotherapy for food allergy: towards a new horizon. *Allergy Asthma Immunol Res* 2013; 5: 3-15 [PMID: 23277873 DOI: 10.4168/aair.2013.5.1.3]
3 Clarke S. Food allergy in young people and children. *Nurs Times* 2011; 107: 21 [PMID: 21667650]
4 Arpino JA, Czapinska H, Piasecka A, Edwards WR, Barker P, Gajda MJ, Bochtler M, Jones DD. Structural basis for efficient chromophore communication and energy transfer in a constructed didomain protein scaffold. *J Am Chem Soc* 2012; 134: 13632-13640 [PMID: 22822710 DOI: 10.1021/ja301987h]
5 Kushwah R, Hu J. Role of dendritic cells in the induction of regulatory T cells. *Cell Biosci* 2011; 1: 20 [PMID: 21711933 DOI: 10.1186/2045-3701-1-20]
6 Worthington JJ, Czajkowska BI, Melton AC, Travis MA. Intestinal dendritic cells specialize to activate transforming growth factor-β and induce Foxp3+ regulatory T cells via integrin αvβ8. *Gastroenterology* 2011; 141: 1802-1812 [PMID: 21723222 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.06.057]
7 Yao Y, Levings MK, Steiner TS. ATP conditions intestinal epithelial cells to an inflammatory state that promotes components of DC maturation. *Eur J Immunol* 2012; 42: 3310-3321 [PMID: 22987503 DOI: 10.1002/eji.201142213]
8 Rimoldi M, Chieppa M, Salucci V, Avogadri F, Sonzogni A, Sampietro GM, Nespoli A, Viale G, Allavena P, Rescigno M. Intestinal immune homeostasis is regulated by the crosstalk between epithelial cells

and dendritic cells. *Nat Immunol* 2005; 6: 507-514 [PMID: 15821737 DOI: 10.1038/ni1192]
9 Wells JM, Rossi O, Meijerink M, van Baarlen P. Epithelial crosstalk at the microbiota-mucosal interface. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108 Suppl 1: 4607-4614 [PMID: 20826446 DOI: 10.1073/pnas.1000092107]
10 Godlewski MM, Hallay N, Bierła JB, Zabielski R. Molecular mechanism of programmed cell death in the gut epithelium of neonatal piglets. *J Physiol Pharmacol* 2007; 58 Suppl 3: 97-113 [PMID: 17901586]
11 Luo BH, Springer TA. Integrin structures and conformational signaling. *Curr Opin Cell Biol* 2006; 18: 579-586 [PMID: 16904883 DOI: 10.1016/j.ceb.2006.08.005]
12 Munger JS, Huang X, Kawakatsu H, Griffiths MJ, Dalton SL, Wu J, Pittet JF, Kaminski N, Garat C, Matthay MA, Rifkin DB, Sheppard D. The integrin alpha v beta 6 binds and activates latent TGF beta 1: a mechanism for regulating pulmonary inflammation and fibrosis. *Cell* 1999; 96: 319-328 [PMID: 10025398]
13 Bochen A, Marelli UK, Otto E, Pallarola D, Mas-Moruno C, Di Leva FS, Boehm H, Spatz JP, Novellino E, Kessler H, Marinelli L. Biselectivity of isoDGR Peptides for Fibronectin Binding Integrin Subtypes α5β1 and αvβ6: Conformational Control through Flanking Amino Acids. *J Med Chem* 2013 Feb 18. *[Epub ahead of print]* [PMID: 23362923]
14 Yang PC, Xing Z, Berin CM, Soderholm JD, Feng BS, Wu L, Yeh C. TIM-4 expressed by mucosal dendritic cells plays a critical role in food antigen-specific Th2 differentiation and intestinal allergy. *Gastroenterology* 2007; 133: 1522-1533 [PMID: 17915221 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.08.006]
15 Yamashita H, Takahashi K, Tanaka H, Nagai H, Inagaki N. Overcoming food allergy through acquired tolerance conferred by transfer of Tregs in a murine model. *Allergy* 2012; 67: 201-209 [PMID: 22050332 DOI: 10.1111/j.1398-9995.2011.02742.x]
16 Chen X, Song CH, Feng BS, Li TL, Li P, Zheng PY, Chen XM, Xing Z, Yang PC. Intestinal epithelial cell-derived integrin αβ6 plays an important role in the induction of regulatory T cells and inhibits an antigen-specific Th2 response. *J Leukoc Biol* 2011; 90: 751-759 [PMID: 21724807 DOI: 10.1189/jlb.1210696]
17 Weigmann B, Tubbe I, Seidel D, Nicolaev A, Becker C, Neurath MF. Isolation and subsequent analysis of murine lamina propria mononuclear cells from colonic tissue. *Nat Protoc* 2007; 2: 2307-2311 [PMID: 17947970 DOI: 10.1038/nprot.2007.315]
18 O'Hara AM, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Rep* 2006; 7: 688-693 [PMID: 16819463 DOI: 10.1038/sj.embor.7400731]
19 Kelly D, Conway S. Bacterial modulation of mucosal innate immunity. *Mol Immunol* 2005; 42: 895-901 [PMID: 15829279 DOI: 10.1016/j.molimm.2004.12.003]
20 Cani PD, Delzenne NM. Gut microflora as a target for energy and metabolic homeostasis. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2007; 10: 729-734 [PMID: 18089955 DOI: 10.1097/MCO.0b013e3282efdebb]
21 Volchenkov R, Karlsen M, Jonsson R, Appel S. Type 1 regulatory T cells and regulatory B cells induced by tolerogenic dendritic cells. *Scand J Immunol* 2013; 77: 246-254 [PMID: 23442246 DOI: 10.1111/sji.12039]
22 Iliev ID, Mileti E, Matteoli G, Chieppa M, Rescigno M. Intestinal epithelial cells promote colitis-protective regulatory T-cell differentiation through dendritic cell conditioning. *Mucosal Immunol* 2009; 2: 340-350 [PMID: 19387433 DOI: 10.1038/mi.2009.13]
23 Iliev ID, Spadoni I, Mileti E, Matteoli G, Sonzogni A, Sampietro GM, Foschi D, Caprioli F, Viale G, Rescigno M. Human intestinal epithelial cells promote the differentiation of tolerogenic dendritic cells. *Gut* 2009; 58: 1481-1489 [PMID: 19570762 DOI: 10.1136/gut.2008.175166]
24 Feng BS, Chen X, Li P, Zheng PY, Chong J, Cho DB, He SH, Tang SG, Yang PC. Expression of integrin alphavbeta6 in the intestinal epithelial cells of patients with inflammatory bowel disease. *N Am J Med Sci* 2009; 1: 200-204 [PMID: 22666696]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》栏目设置

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2013年6月18日; 21(17): 1649-1653
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

亚砷酸钠对大鼠骨髓间充质干细胞的过氧化损伤

吕海龙, 李思源, 慕晓玲, 姜玉峰

吕海龙, 石河子大学第一附属医院肝胆外科 新疆维吾尔自治区石河子市 832008
李思源, 慕晓玲, 姜玉峰, 石河子大学医学院组织胚胎学教研室 新疆维吾尔自治区石河子市 832008
吕海龙, 副主任医师, 主要从事肝胆外科的相关工作.
国家自然科学基金资助项目, No. 30960338
兵团博士基金资助项目, No. 2011BB019
兵团重点领域科技攻关基金资助项目, No. 2011BA058
作者贡献分布: 本课题由吕海龙与姜玉峰共同设计; 研究过程由吕海龙完成; 本论文写作由姜玉峰、李思源及慕晓玲完成.
通讯作者: 姜玉峰, 副教授, 832008, 新疆维吾尔自治区石河子市北四路, 石河子大学医学院组织胚胎学教研室.
yufengjiang03@126.com
电话: 0993-2057152
收稿日期: 2013-01-29 修回日期: 2013-03-15
接受日期: 2013-05-19 在线出版日期: 2013-06-18

$NaAsO_2$ induces cytotoxicity to rat bone marrow mesenchymal stem cells

Hai-Long Lv, Si-Yuan Li, Xiao-Ling Mu, Yu-Feng Jiang

Hai-Long Lv, Department of Hepatobiliary Surgery, the First Affiliated Hospital, School of Medicine of Shihezi University, Shihezi 832008, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Si-Yuan Li, Xiao-Ling Mu, Yu-Feng Jiang, Department of Histology and Embryology, School of Medicine, Shihezi University, Shihezi 832008, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 30960338; the Doctoral Foundation of Xinjiang Production and Construction Corps, No. 2011BB019; the Key Scientific and Technological Project of Xinjiang Production and Construction Corps, No. 2011BA058
Correspondence to: Yu-Feng Jiang, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Histology and Embryology, School of Medicine, Shihezi University, Beisi Road, Shihezi 832008, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. yufengjiang03@126.com
Received: 2013-01-29 Revised: 2013-03-15
Accepted: 2013-05-19 Published online: 2013-06-18

Abstract

AIM: To investigate the toxic effect of $NaAsO_2$ on rat bone marrow mesenchymal stem cells (MSCs) and to explore the possible mechanism involved.

METHODS: Cultured rat bone MSCs were exposed to different concentrations of $NaAsO_2$ (10, 20, 30, 40 and 50 μmol/L) for 24 h. MTT assay was used to evaluate cell viability. The level of reactive oxygen species (ROS) was detected by staining cells with DCFH-DA. The content of malondialdehyde (MDA) and activity of superoxide dismutase (SOD) in rat bone MSCs were also measured.

RESULTS: Treatment with $NaAsO_2$ significantly decreased cell viability, GSH content and SOD activity, increased ROS and MDA formation, and induced Caspase 3 activation in rat bone MSCs cells.

CONCLUSION: Our findings suggest that $NaAsO_2$-induced oxidative stress may cause MSC apoptosis via mitochondria-dependent signaling pathways.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: $NaAsO_2$; Mesenchymal stem cells; Oxidative stress

Lv HL, Li SY, Mu XL, Jiang YF. $NaAsO_2$ induces cytotoxicity to rat bone marrow mesenchymal stem cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(17): 1649-1653
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1649.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i17.1649

摘要

目的: 探索亚砷酸钠(sodiumarsenite, $NaAsO_2$)对原代培养的大鼠骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)的氧化应激作用.

方法: 采集4周龄SD大鼠骨髓, 体外培养获得大鼠骨髓MSCs, 取第3代大鼠骨髓MSCs, 将不同浓度$NaAsO_2$(10、20、30、40和50 μmol/L)作用于大鼠骨髓MSCs, 进行染毒, 染毒时间为24 h, 采用细胞毒性试验法观察$NaAsO_2$对大鼠MSCs的细胞毒性作用, 利用2',7'-二乙酰二氯荧光素(2',7'-dichlorofluorescin diacetate, DCFH-DA)检测细胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平, 并测定细胞中丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量及超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活力, 同时测定细胞内还原型谷胱甘肽(reduced glutathione, GSH)的含量, Caspase 3试剂盒检测Caspase 3

■背景资料
砷是一种公认的毒物, 砷所引起的氧化应激在多种细胞中已被证实, 骨髓间充质干细胞是存在于体内的正常细胞, 他具有多向分化的潜能. 但是亚砷酸钠(sodiumarsenite, $NaAsO_2$)对骨髓间充质干细胞损伤的确切机制目前尚未阐明.

■同行评议者
吴江锋, 教授, 三峡大学医学院形态学部

■研发前沿
探究$NaAsO_2$对大鼠骨髓间充质干细胞的毒性和氧化应激作用, 可能会成为砷毒性作用研究的新热点.

酶活性.

结果: 不同浓度的$NaAsO_2$作用于大鼠骨髓MSCs, 用MTS法进行细胞毒性检测显示, 当$NaAsO_2$浓度≥20 μmol/L时, 大鼠骨髓MSCs吸光度值分别为1.98±0.09、1.45±0.12、1.26±0.11和1.02±0.15, 与对照组比较明显降低(P<0.01); 不同浓度$NaAsO_2$作用于大鼠骨髓MSCs, DCF荧光强度分别为1572±124, 1998±97、2337±210、2878±154和3960±135, 与对照组相比均明显增高(P<0.05); 不同浓度$NaAsO_2$作用于大鼠骨髓MSCs, MDA分别为1.4 EU/mL±0.06 EU/mL、1.9 EU/mL±0.12 EU/mL、2.3 EU/mL±0.08 EU/mL、2.6 EU/mL±0.11 EU/mL和3.3 EU/mL±0.09 EU/mL, 与对照组相比均明显增高(P<0.05); 不同浓度$NaAsO_2$作用于大鼠骨髓MSCs, SOD分别为29 EU/mL±0.19 EU/mL、22 EU/mL±0.12 EU/mL、17 EU/mL±0.06 EU/mL、12 EU/mL±0.11 EU/mL和10 EU/mL±0.06 EU/mL, 与对照组相比均明显降低(P<0.05); 当$NaAsO_2$浓度≥20 μmol/L时, 大鼠骨髓MSCs的GSH分别为75 EU/mL±0.11 EU/mL、71 EU/mL±0.8 EU/mL、62 EU/mL±0.12 EU/mL和54 EU/mL±0.9 EU/mL, 与对照组相比均明显降低(P<0.05).

结论: $NaAsO_2$可以诱导大鼠骨髓MSCs氧化损伤增加, 提示氧化应激可能是$NaAsO_2$致大鼠骨髓MSCs细胞毒作用机制之一.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 亚砷酸钠; 间充质干细胞; 氧化损伤

核心提示: 亚砷酸钠(sodiumarsenite)降低细胞活力, 还原型谷胱甘肽(reduced glutathione, GSH)和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase)水平, 增加细胞内活性氧(reactive oxygen species), GSH和丙二醛(malondialdehyde)含量.

吕海龙, 李思源, 慕晓玲, 姜玉峰. 亚砷酸钠对大鼠骨髓间充质干细胞的过氧化损伤. 世界华人消化杂志 2013; 21(17): 1649-1653
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1649.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i17.1649

■相关报道
$NaAsO_2$对体外培养的神经元, 肝脏细胞, 肾脏细胞等细胞有细胞毒性作用, 其作用机制可能通过产生氧化应激反应, 但目前有关$NaAsO_2$对原代培养的骨髓间充质干细胞的作用, 尚未阐明.

0 引言

砷是自然界存在的有毒类金属元素, 广泛分布于岩石、土壤和水环境中[1]. 砷主要经呼吸道和消化系途径进入机体, 长期摄入会在体内蓄积, 引起慢性砷中毒, 新疆是地方性砷中毒危害较严重的地区之一. 砷暴露所引起的健康损害不仅包括急、慢性砷中毒, 还包括致癌、致畸和致突变作用[2,3], 砷已被国际肿瘤研究中心(International Agency for Research on Cancer, IARC)归类为第一类致癌物[4].

骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是存在于体内的正常细胞, 他具有多向分化的潜能, 可以分化为成骨细胞、成软骨细胞、脂肪细胞、肌细胞和神经细胞等[5]. 有关砷的致癌作用机制, 已经开展了一定的研究, 但是砷暴露对干细胞损伤的确切机制目前并不明确, 有关砷暴露对骨髓MSCs的实验研究也不多见. 为了深入研究砷对体内正常干细胞毒性的作用, 本研究采用体外培养的原代骨髓MSCs, 探讨亚砷酸钠(sodiumarsenite, $NaAsO_2$)对大鼠骨髓MSCs细胞的毒性和氧化应激作用, 为进一步阐明砷导致干细胞损伤作用机制提供依据.

1 材料和方法

1.1 材料 CO_2培养箱(日本三洋公司); 低温离心机(日本Sigma公司); 倒置相差显微镜(Olympus); 全自动酶标仪(Bio-Tek); 全波长分光光度计(Bio-Tek). $NaAsO_2$(美国Sigma公司); 胰蛋白酶(美国Sigma公司); DMEM培养基和胎牛血清(美国Gibco公司); DCFH-DA(美国Sigma公司); Caspase 3酶活性试剂盒(碧云天公司); CellTiter 96 Aqueous Non-Radioactive cell proliferation Assay试剂盒(美国Promega公司); 超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)试剂盒、丙二醛(malondialdehyde, MDA)试剂盒、还原型谷胱甘肽(reduced glutathione, GSH)(南京建成生物工程研究所).

1.2 方法

1.2.1 大鼠骨髓MSCs的分离、扩增和纯化: 4周龄SD大鼠引颈处死后置于750 mL/L乙醇浸泡约1 min, 无菌条件下分离出大鼠的股骨和胫骨, 用注射器冲出骨髓细胞后经4号针头吹打, 制成单细胞悬液. 1000 r/min离心5 min, 弃去上清. 用加有10%胎牛血清的DMEM重悬细胞, 接种于25 cm^2的培养瓶, 置37 ℃, 5%CO_2培养箱中培养. 3 d后更换培养液, 以后每3-4 d换液1次, 7-10 d细胞生长融合. 经0.25%胰酶消化, 以1×10^5/mL密度传代培养[6,7]. 最终获得排列呈旋涡状、贴壁生长的长梭形大鼠骨髓MSCs. 取第3代大鼠细胞用于染毒实验, 实验组分别加入新鲜配制的不同浓度的$NaAsO_2$, 对照组加入正常培养液.

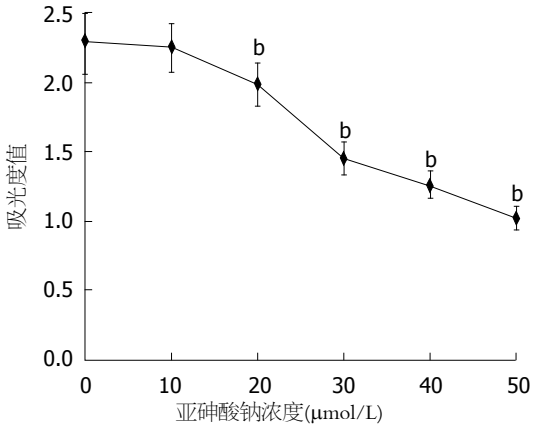


图 1 不同浓度$NaAsO_2$对大鼠骨髓骨髓间充质干细胞的毒性作用. $^bP<0.01$ *vs* 对照组.

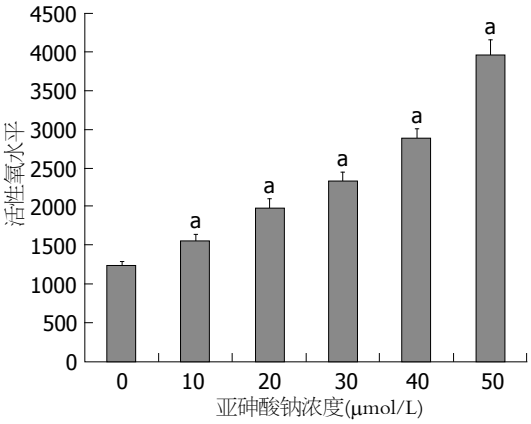


图 2 $NaAsO_2$对大鼠骨髓间充质干细胞胞内细胞内活性氧活性的影响. $^aP<0.05$ *vs* 对照组.

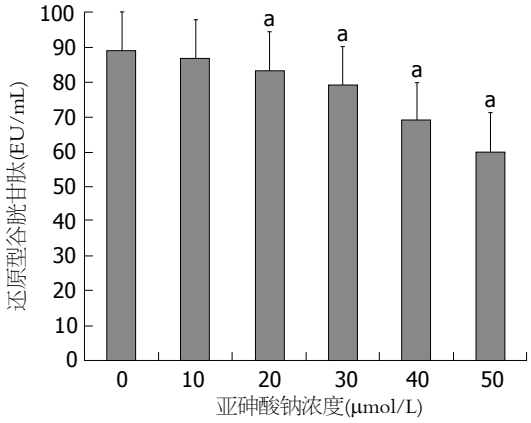


图 3 $NaAsO_2$对大鼠骨髓间充质干细胞胞内还原型谷胱甘肽活性的影响. $^aP<0.05$ *vs* 对照组.

1.2.2 细胞毒性试验法: 将大鼠骨髓MSCs以每孔1×10^5/mL接种于96孔板, 待长至85%融合后, 吸出原培养液, 以不同浓度浓度的$NaAsO_2$(10、20、30、40和50 μmol/L)作用于大鼠骨髓MSCs, 37 ℃, 5%CO_2培养24 h后, 每孔加20 mL MTS, 继续培养4 h, 于490 nm波长处测定光密度(*A*)值. *A*值的大小与活细胞数呈正比关系.

1.2.3 ROS的检测: 利用荧光探DCFH-DA检测细胞内ROS的形成. 大鼠骨髓MSCs用各浓度的$NaAsO_2$作用24 h后, PBS洗2次, 加入含10 μmol/L DCFH-DA的DMEM培养液1 mL至各孔中, 37 ℃孵育30 min, 用DMEM培养液洗去细胞外DCFH-DA, 使用全波长分光光度计测定细胞内DCF荧光强度(激发光485 nm, 发射光528 nm), 用BCA方法进行蛋白定量.

1.2.4 MDA、GSH含量和SOD活力的测定: 将大鼠骨髓MSCs以1×10^5/mL密度接种于培养皿中, 加入不同浓度浓度的$NaAsO_2$(10、20、30、40和50 μmol/L)处理24 h后收集细胞, 裂解, 12000 *g*离心10 min, 取上清液. 采用相关试剂盒测定MDA、GSH含量和SOD活力, 用BCA方法进行蛋白定量, 本实验重复3次.

1.2.5 Caspase 3酶活性检测: 以不同浓度的$NaAsO_2$(10、20、30、40和50 μmol/L)处理大鼠骨髓MSCs之后, 离心收集细胞, 加入裂解液, 冰上孵育, 缓冲液Ac-DEVD-pNA孵育, 用BCA方法进行蛋白定量. 用酶标仪405 nm波长测量*A*值.

统计学处理 每组实验重复3次. 数据均以mean±SD表示, 使用SPSS11.5统计软件进行显著性*t*检验和单因素方差(ANOVA)统计分析.

2 结果

2.1 细胞毒性试验 由图1可见, 用MTS法进行细胞毒性检测显示, 不同浓度的亚砷酸钠处理大鼠骨髓MSCs后, 与对照组比较, 各组间细胞活性存在明显差异. 经*t*检验进行两两比较发现, 当浓度≥20 μmol/L时, $NaAsO_2$处理组的*A*值与对照组比较明显降低($P<0.01$), 说明接触染毒24 h后, 大鼠骨髓MSCs活性明显降低. 提示一定浓度的$NaAsO_2$对大鼠骨髓MSCs具有明显的毒性作用.

2.2 $NaAsO_2$对ROS含量的影响 以DCFH-DA的转化产物二氯荧光素(2',7'-dichlorodihydrofluorescin, DCF)的平均荧光强度代表ROS含量, 各浓度$NaAsO_2$作用于大鼠骨髓MSCs后DCF荧光强度与对照组相比均明显增高, 且呈剂量-反应趋势($P<0.05$, 图2).

2.3 $NaAsO_2$对SOD活力、GSH和MDA含量的影响 与对照组比较, 各浓度亚砷酸钠染毒组, 大鼠骨髓MSCs细胞内MDA含量均显著升高, GSH和SOD活力均显著下降(图3-5), 差异有统计学

■创新盘点
采用贴壁分离方法, 获得高纯度的大鼠骨髓间充质干细胞. 在此基础上, 进行了$NaAsO_2$毒性作用实验, 检测了氧化应激相关酶和Caspase 3酶活性水平.

■应用要点
可应用于砷对机体干细胞损伤及毒性作用机制的研究等方面.

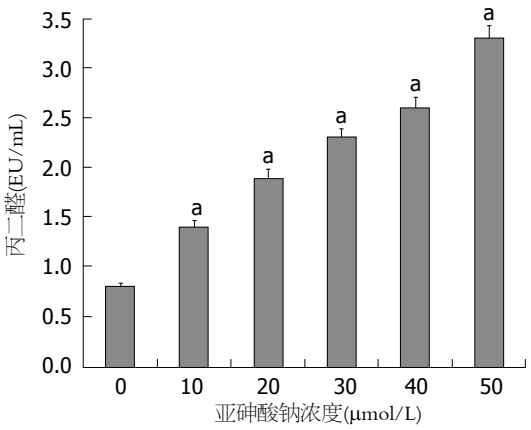


图 4 $NaAsO_2$对大鼠骨髓间充质干细胞胞内丙二醛活性的影响. $^aP<0.05$ *vs* 对照组.

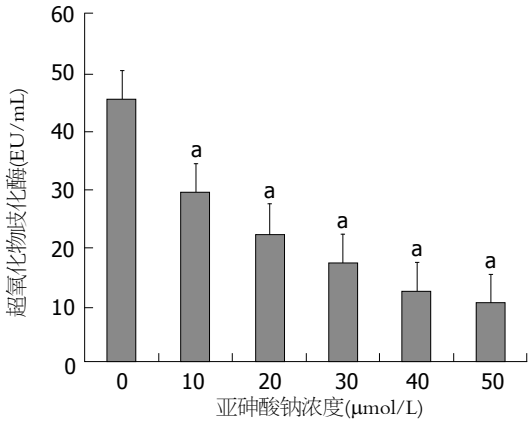


图 5 $NaAsO_2$对大鼠骨髓间充质干细胞胞内超氧化物歧化酶活性的影响. $^aP<0.05$ *vs* 对照组.

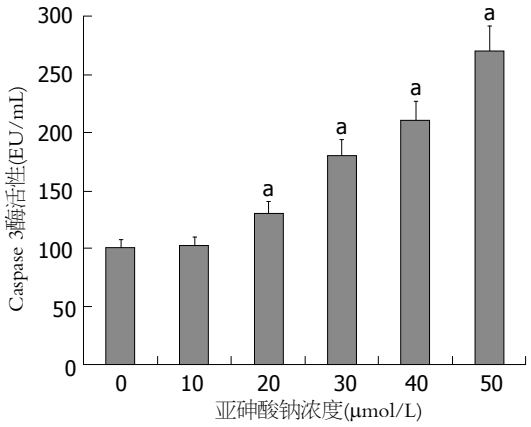


图 6 $NaAsO_2$对大鼠骨髓间充质干细胞胞内Caspase 3酶活性的影响. $^aP<0.05$ *vs* 对照组.

意义($P<0.05$), 且随着亚砷酸钠染毒浓度的升高, 大鼠骨髓MSCs细胞内MDA均呈明显的上升趋势, SOD活力和GSH含量呈明显的下降趋势, 差异均有统计学意义($P<0.05$).

2.4 Caspase 3酶活性 不同浓度$NaAsO_2$作用于大鼠骨髓MSCs 24 h, 各浓度均激活Caspase 3酶活性, 50 μmol/L时细胞Caspase 3酶活性最高($P<0.05$), 进一步表明凋亡可能是$NaAsO_2$导致大鼠骨髓MSCs毒性作用的原因之一(图6). 结果如图所示, 与对照组相比, $NaAsO_2$作用大鼠骨髓MSCs诱导其凋亡, 且有明显剂量效应关系, 这个结果说明$NaAsO_2$可以诱导大鼠骨髓MSCs细胞凋亡.

3 讨论

砷是一种公认的毒物, 砷所引起的氧化应激已被不少研究所证实, 亚砷酸盐可以提高细胞超氧阴离子自由基和羟自由基的生成, 砷诱导人类上皮细胞ROS和活性氮族(reactive nitrogen species, RNS)的生成, 氧化应激被认为是砷毒理学作用特别是致癌作用的重要机制[8,9]. 本实验表明, $NaAsO_2$能明显的抑制大鼠骨髓MSCs的增殖, 并且随着$NaAsO_2$浓度的升高, 其抑制作用越显著, 说明这种效应存在浓度依赖性. 本实验也证实砷可以引起大鼠骨髓MSCs细胞内ROS和MDA含量均显著升高, GSH和SOD活力均显著下降. 各浓度的$NaAsO_2$作用大鼠骨髓MSCs 24 h后, 均引起了细胞的凋亡, 并且诱导凋亡效应与$NaAsO_2$浓度也呈一定的依赖性.

ROS是细胞氧代谢的产物, 他的产量增多可能引起机体氧化和抗氧化的失衡, 从而影响细胞凋亡. DCFH-DA是一种非极性荧光染料, 可以自由通过细胞膜, 进入细胞后被细胞非特异性内酯酶去酯形成DCFH, DCFH本身不发荧光, 但若被过氧化氢等氧化后即可形成发荧光的DCF, 通过DCF荧光强度的变化可检测细胞内的ROS[10]. 本实验发现$NaAsO_2$可引起大鼠骨髓MSCs细胞ROS产生增多, 结果显示出$NaAsO_2$染毒浓度越大, 细胞内ROS增加趋势越明显, 砷的细胞毒性也就越大. 究其原因, ROS可激活线粒体膜通透性孔道(permeability transition pore, PTP)开放, 导致线粒体膜损伤, 进而引起细胞色素c的释放, 激活Caspase 3, 诱导细胞凋亡. 因此, 本研究将不同浓度$NaAsO_2$作用于大鼠骨髓MSCs, 研究证实, $NaAsO_2$诱导大鼠骨髓MSCs细胞激活Caspase 3, 激活Caspase 3的激活与$NaAsO_2$的染毒浓度呈现剂量效应关系.

砷可以在体内和体外诱导氧化应激的产生, 通过多种机制发生生理和病理反应. GSH是一种重要的抗氧化物, 可以清除过量产生的自由基, 砷进入体内后与含巯基的酶结合, SH在砷的甲基化过程中通过酶促和非酶促作用与砷形成砷-

硫复合物, 减少砷在体内的蓄积, 从而减轻砷的毒性. 因此GSH可作为机体防止砷中毒的第一道防线[11,12]. 细胞MDA含量反映细胞脂质过氧化损伤程度, 而抗氧化酶SOD能清除细胞ROS, 避免细胞过度氧化应激. SOD是存在于线粒体内的抗氧化物酶, 与ROS结合, 并将其转换为过氧化氢和氧, 在保护细胞免受氧化损伤中起关键作用[13,14]. 在本研究中, 染毒组的SOD活力均下降, 这可能是由于在正常状态下, SOD是维持机体内ROS产生和清除动态平衡的重要抗氧化酶之一, 但当外源性化学物质(如砷化物)进入机体后, 其原形或中间活性产物均可破坏体内抗氧化系统的平衡, 使SOD活力降低. 可见, 过量的自由基一方面造成了过氧化物的增加, 另一方面又会造成SOD和GSH的耗竭[15,16], 因此, 在MDA、GSH、SOD的改变方面表现了剂量-效应关系的一致性, 这与本试验研究结果相似.

总之, 本研究中$NaAsO_2$的暴露影响了大鼠骨髓MSCs细胞抗氧化系统的平衡, 使SOD活力下降, 进而导致由砷生成的ROS不能被及时清除, 使ROS水平持续升高, 可见氧化应激可能是$NaAsO_2$致大鼠骨髓MSCs细胞毒性作用的机制之一. 本研究从氧化应激角度探讨了砷所致大鼠骨髓MSCs细胞损伤的可能机制, 为进一步深入研究砷对机体干细胞毒性的机制提供了理论依据.

4 参考文献

1 Bachate SP, Khapare RM, Kodam KM. Oxidation of arsenite by two β-proteobacteria isolated from soil. *Appl Microbiol Biotechnol* 2012; 93: 2135-2145 [PMID: 21983709 DOI: 10.1007/s00253-011-3606-7]

2 Chen B, Arnold LL, Cohen SM, Thomas DJ, Le XC. Mouse arsenic (+3 oxidation state) methyltransferase genotype affects metabolism and tissue dosimetry of arsenicals after arsenite administration in drinking water. *Toxicol Sci* 2011; 124: 320-326 [PMID: 21934131 DOI: 10.1093/toxsci/kfr246]

3 Chowdhury R, Dutta A, Chaudhuri SR, Sharma N, Giri AK, Chaudhuri K. In vitro and in vivo reduction of sodium arsenite induced toxicity by aqueous garlic extract. *Food Chem Toxicol* 2008; 46: 740-751 [PMID: 17983699 DOI: 10.1016/j.fct.2007.09.108]

4 Jeon BG, Kumar BM, Kang EJ, Maeng GH, Lee YM, Hah YS, Ock SA, Kwack DO, Park BW, Rho GJ. Differential cytotoxic effects of sodium meta-arsenite on human cancer cells, dental papilla stem cells and somatic cells correlate with telomeric properties and gene expression. *Anticancer Res* 2011; 31: 4315-4328 [PMID: 22199297]

5 Saeed H, Taipaleenmäki H, Aldahmash AM, Abdallah BM, Kassem M. Mouse embryonic fibroblasts (MEF) exhibit a similar but not identical phenotype to bone marrow stromal stem cells (BMSC). *Stem Cell Rev* 2012; 8: 318-328 [PMID: 21927803 DOI: 10.1007/s12015-011-9315-x]

6 Azizi SA, Stokes D, Augelli BJ, DiGirolamo C, Prockop DJ. Engraftment and migration of human bone marrow stromal cells implanted in the brains of albino rats--similarities to astrocyte grafts. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 3908-3913 [PMID: 9520466 DOI: 10.1073/pnas.95.7.3908]

7 王倩, 于娜, 姜玉峰. 大鼠骨髓基质细胞的培养及生物学特性鉴定. 现代生物医学进展 2010; 10: 1473-1476

8 Li B, Li X, Zhu B, Zhang X, Wang Y, Xu Y, Wang H, Hou Y, Zheng Q, Sun G. Sodium arsenite induced reactive oxygen species generation, nuclear factor (erythroid-2 related) factor 2 activation, heme oxygenase-1 expression, and glutathione elevation in Chang human hepatocytes. *Environ Toxicol* 2011 Aug 1. *[Epub ahead of print]* [PMID: 21809430 DOI: 10.1002/tox.20731]

9 Lafferty BJ, Ginder-Vogel M, Sparks DL. Arsenite oxidation by a poorly-crystalline manganese oxide. 3. Arsenic and manganese desorption. *Environ Sci Technol* 2011; 45: 9218-9223 [PMID: 21950706 DOI: 10.1021/es201281u]

10 Eblin KE, Hau AM, Jensen TJ, Futscher BW, Gandolfi AJ. The role of reactive oxygen species in arsenite and monomethylarsonous acid-induced signal transduction in human bladder cells: acute studies. *Toxicology* 2008; 250: 47-54 [PMID: 18588940 DOI: 10.1016/j.tox.2008.05.018]

11 Kohsaka S, Takahashi K, Wang L, Tanino M, Kimura T, Nishihara H, Tanaka S. Inhibition of GSH synthesis potentiates temozolomide-induced bystander effect in glioblastoma. *Cancer Lett* 2013; 331: 68-75 [PMID: 23246370 DOI: 10.1016/j.canlet.2012.12.005]

12 Kisić B, Mirić D, Žorić L, Ilić A, Dragojević I. [Reduced glutathione level and GSH-dependent enzyme activities in corticonuclear blocks of lenses in patients with senile cataract]. *Srp Arh Celok Lek* 2012; 140: 563-570 [PMID: 23289270 DOI: 10.2298/SARH1210563K]

13 Thomas R, Sharifi N. SOD mimetics: a novel class of androgen receptor inhibitors that suppresses castration-resistant growth of prostate cancer. *Mol Cancer Ther* 2012; 11: 87-97 [PMID: 22172488 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-11-0540]

14 Assady M, Farahnak A, Golestani A, Esharghian M. Superoxide Dismutase (SOD) Enzyme Activity Assay in Fasciola spp. Parasites and Liver Tissue Extract. *Iran J Parasitol* 2011; 6: 17-22 [PMID: 22347309]

15 Lii CK, Lin AH, Lee SL, Chen HW, Wang TS. Oxidative modifications of proteins by sodium arsenite in human umbilical vein endothelial cells. *Environ Toxicol* 2011; 26: 459-471 [PMID: 20196163 DOI: 10.1002/tox.20572]

16 Mittal M, Flora SJ. Effects of individual and combined exposure to sodium arsenite and sodium fluoride on tissue oxidative stress, arsenic and fluoride levels in male mice. *Chem Biol Interact* 2006; 162: 128-139 [PMID: 16828073 DOI: 10.1016/j.cbi.2006.05.018]

■同行评价
本文新颖性较好, 内容重要, 具有一定指导意义.

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2013年6月18日; 21(17): 1654-1659
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

高脂饮食对胃旁路术后2型糖尿病大鼠糖代谢及GLP-1的影响

王 浩, 赵 滢

■背景资料
20世纪80年代国外分析接受减肥手术的手术患者资料，意外发现对合并有2型糖尿病的患者有良好的降血糖作用，体质量显著减轻的同时术后患者血糖糖化血红蛋白及胰岛素敏感性恢复正常，并在不采用任何降糖措施维持的条件下可以长期正常. 2008-10胃旁路手术治疗糖尿病获得美国国家卫生研究院及美国糖尿病协会的批准，并制定了患者选择及手术方式的标准，但是胃旁路手术治疗2型糖尿病的机制至今仍未完全明了，且对于胃旁路手术后2型糖尿病预后情况的研究也很少.

王浩, 大连医科大学附属第一医院内分泌科 辽宁省大连市 116011
赵滢, 中国医科大学附属盛京医院胃肠外科 辽宁省沈阳市 110004
王浩, 硕士, 主治医师, 主要从事2型糖尿病及其并发症的研究.
作者贡献分布: 王浩与赵滢对此文所作贡献均等; 此课题由王浩研究设计; 研究过程由王浩与赵滢共同操作完成; 研究所用试剂与分析工具由赵滢提供; 数据分析由王浩完成; 本论文写作由王浩完成.
通讯作者: 王浩, 主治医师, 116011, 大连市沙河口区联合路193号, 大连医科大学附属第一医院内分泌科. good7261@163.com
收稿日期: 2013-04-03 修回日期: 2013-04-10
接受日期: 2013-04-18 在线出版日期: 2013-06-18

Effect of a high-fat diet on glucose/lipid metabolism and GLP-1 secretion in rats with type 2 diabetes after gastric bypass surgery

Hao Wang, Ying Zhao

Hao Wang, Department of Endocrinology, the First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116011, Liaoning Province, China
Ying Zhao, Department of Gastrointestinal Surgery, Shengjing Hospital, China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China
Correspondence to: Hao Wang, Attending Physician, Department of Endocrinology, the First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, 193 Lianhe Road, Shahekou District, Dalian 116011, Liaoning Province, China. good7261@163.com
Received: 2013-04-03 Revised: 2013-04-10
Accepted: 2013-04-18 Published online: 2013-06-18

Abstract

AIM: To assess the effect of a high-fat diet on glucose/lipid metabolism and glucagon-like peptide-1 (GLP-1) secretion in rats with type 2 diabetes after gastric bypass surgery.

METHODS: Twenty-four SD rats were used to induce type 2 diabetes and then randomly divided into either a control group (n = 10) or a high-fat diet group (n = 10). After gastric bypass surgery, the control group and high-fat diet group were fed a normal diet and a high-fat diet for 8 wk, respectively. Food intake, body weight, fasting plasma glucose and the levels of GLP-1 were measured.

RESULTS: The body weight and average food intake first decreased and then gradually increased in both groups. At week 10 after surgery, there was a significant difference in body weight between the control group and high fat diet group (302.4 g ± 34.1 g *vs* 334.2 g ± 47.5 g, $P < 0.05$). Fasting plasma glucose gradually decreased after surgery in both groups; however, fasting plasma glucose began to increase with the prolongation of time in the high-fat diet group. At week 8, fasting plasma glucose was higher in the high-fat diet group than in the control group. At week 4 after surgery, insulin level increased and insulin resistance index decreased in both groups. The level of GLP-1 at week 10 after surgery significantly increased in the high-fat diet group compared to the control group (39.33 pmol/L ± 2.77 pmol/L *vs* 22.69 pmol/L ± 3.87 pmol/L, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Gastric bypass reduces blood glucose in rats with type 2 diabetes. A serious disturbance of carbohydrate metabolism stimulated by a high fat diet was not observed in rats after gastric bypass, and the underlying mechanism may be related to increased secretion of GLP-1.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Gastric bypass; Type 2 diabetes; High-fat diet; glucagon-like peptide-1; Carbohydrate metabolism

Wang H, Zhao Y. Effect of a high-fat diet on glucose/lipid metabolism and GLP-1 secretion in rats with type 2 diabetes after gastric bypass surgery. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(17): 1654-1659 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1654.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i17.1654

摘要

目的: 研究高脂饮食对胃旁路术后2型糖尿病

■同行评议者
于珮, 主任医师, 天津医科大学代谢病医院

大鼠糖代谢及胰高血糖素样肽-1(glucagon-like peptide-1, GLP-1)分泌的影响, 为临床研究糖尿病胃旁路术后复发提供实验数据.

方法: 选择♂7-8周龄SD大鼠24只, 建立2型糖尿病动物模型后随机等分为对照组和高脂组, 均行保留胃容积的胃旁路手术, 术后对照组和高脂组分别自由进食普通饲料和高脂饲料, 观察10 wk. 术前及术后每2 wk同一时间测体质量、平均进食量、空腹血糖; 术前及术后第10周检测糖耐量、血清胰岛素、GLP-1, 并计算胰岛素抵抗指数.

结果: (1)体质量和进食量: 高脂组大鼠在术后先下降后升高, 10 wk实验结束时对照组进食量为(40.4 g±7.9 g), 与高脂组大鼠进食量(41.7 g±6.1 g)比较差异无统计学意义(P>0.05); 10 wk实验结束时两组大鼠的体质量均较术前体质量有明显增加(P<0.05), 且高脂组大鼠的体质量334.2 g±47.5 g明显高于对照组(302.4 g±34.1 g)(P<0.05); (2)空腹血糖、糖耐量、胰岛素、胰岛素抵抗指数: 大鼠术后空腹血糖均逐渐降低, 但随时间延长高脂组大鼠空腹血糖开始出现升高, 第8周开始高脂组空腹血糖高于对照组(P>0.05); 在第10周实验结束时, 对照组及高脂组喂养的2型糖尿病大鼠糖耐量均较术前下降(分别较实验前AUC减小11.5%和5.2%); 在术后第4周时对照组和高脂组空腹胰岛素水平及胰岛素抵抗指数均较术前有所升高(P<0.05), 第10周时对照组空腹胰岛素水平和胰岛素抵抗指数无明显变化, 而高脂组空腹胰岛素水平下降、胰岛素抵抗指数升高, 但与术前差异仍有统计学意义(P<0.05); (3)GLP-1: 术后10 wk时对照组和高脂组大鼠的血清GLP-1浓度分别为22.69 pmol/L±3.87 pmol/L、39.33 pmol/L±2.77 pmol/L, 均较术前8.15 pmol/L±1.40 pmol/L、7.76 pmol/L±0.84 pmol/L升高(P<0.05), 其中高脂组GLP-1浓度增加的更为显著.

结论: 胃旁路手术可以降低2型糖尿病大鼠的血糖并改善胰岛素抵抗, 在高脂饮食刺激下术后未见严重糖代谢紊乱, 其机制可能与GLP-1分泌增加有关.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 胃旁路术; 2型糖尿病; 高脂饮食; 胰高血糖素样肽-1; 糖代谢

核心提示: 通过观察高脂饮食对胃旁路术后2型糖尿病大鼠糖代谢及胰高血糖素样肽-1(glucagon-like peptide-1, GLP-1)分泌的影响发现, 胃旁路手术可以降低2型糖尿病大鼠的空腹血糖, 促进胰岛素分泌, 在正常进食后血糖仅轻度升高, 而在高脂饮食刺激下同样未见严重糖代谢紊乱, 其机制与胃旁路术改变GLP-1分泌有关.

王浩, 赵滢. 高脂饮食对胃旁路术后2型糖尿病大鼠糖代谢及GLP-1的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(17): 1654-1659
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1654.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i17.1654

0 引言

糖尿病是全球愈来愈严重的健康问题, 调查显示全球约有1.8亿人患糖尿病, 其中2型糖尿病占糖尿病总数的90%-95%[1]. 传统的药物治疗等措施很难将血糖长期控制在正常范围, 作为最有效的减肥手术之一的胃旁路术, 不仅使肥胖症患者体质量明显下降而且能使其伴发的2型糖尿病获得意想不到的长期控制[2,3]. 尽管胃旁路手术已应用于临床治疗2型糖尿病, 但目前国内外文献对于胃旁路手术后2型糖尿病预后情况研究报道较少. 故本研究对2型糖尿病大鼠行保留胃容积的胃旁路手术后, 分别给予正常饮食及高脂饮食, 观察其空腹血糖及胰高血糖素样肽-1(glucagon-like peptide-1, GLP-1)激素水平的变化, 以期对2型糖尿病手术治疗机制及预后研究提供实验数据.

1 材料和方法

1.1 材料 选择♂7-8周龄SD大鼠24只(由中国医科大学实验动物中心提供), 体质量204.3 g±21.6 g, 大鼠分笼饲养, 自由饮水. 链脲佐菌素(STZ)(Sigma, 美国); 全自动血糖分析仪及试纸(Lifescan, 美国); 大鼠GLP-1 ELISA试剂盒(ADL, 美国); 大鼠胰岛素放射免疫分析试剂盒(Linco, 美国); 酶标仪(TECAN, 瑞士).

1.2 方法

1.2.1 2型糖尿病动物造模及分组: 大鼠高脂饮食喂饲, 第13天时按45 mg/kg体质量腹腔内1次注射2%的STZ溶液(pH 4.2、0.1 mol/L的柠檬酸钠-柠檬酸缓冲液冰浴中新鲜配制), 48 h后用血糖仪测大鼠尾静脉血糖≥14 mmol/L, 稳定5 d为造模成功. 随机分为对照组(胃旁路术+普通饲料)和高脂组(胃旁路术+高脂饲料), 每组24只. 术前各组大鼠体质量、空腹血糖、平均进食量差异无统计学意义(P>0.05).

1.2.2 手术: 手术方法参照文献[4]中保留胃容积

■研发前沿
胃旁路手术治疗肥胖症和2型糖尿病效果在广大患者和学术界已经得到认同, 术后立竿见影的效果大大满足了饱受疾病煎熬的患者的需要, 为推动此种新型的治疗手段提供了发展的动力. 然而也不容忽视以下问题: 首先, 目前很少有循证医学证据证明胃旁路手术治疗较低体质量指数的2型糖尿病患者的效果; 其次, 胃旁路手术治疗2型糖尿病降糖机制尚未完全明确, 同样其术后复发情况及原因也不明确.

■创新盘点
本研究对2型糖尿病大鼠行保留胃容积的胃旁路手术后, 分别给予正常饮食及高脂饮食, 观察其空腹血糖及胰高血糖素样肽-1激素水平的变化.

表 1 大鼠术前、术后进食量变化 (n = 10, g)

分组	术前	术后2 wk	术后4 wk	术后6 wk	术后8 wk	术后10 wk
对照组	24.6 ± 4.5	23.6 ± 5.1	26.2 ± 2.0	26.7 ± 4.1	32.6 ± 4.5	40.4 ± 7.9
高脂组	25.4 ± 3.7	20.7 ± 3.2	25.4 ± 3.6	27.5 ± 3.3	33.1 ± 2.8	41.7 ± 6.1

表 2 大鼠术前、术后体质量变化 (n = 10, g)

分组	术前	术后2 wk	术后4 wk	术后6 wk	术后8 wk	术后10 wk
对照组	201.7 ± 23.7	206.1 ± 21.2	227.4 ± 16.9	258.9 ± 22.8	278.3 ± 26.7	302.4 ± 34.1
高脂组	205.4 ± 18.9	201.5 ± 24.3	223.3 ± 27.1	267.2 ± 25.4	315.4 ± 32.5	334.2 ± 47.5

的胃旁路手术, 具体如下: 10%水合氯酸腹腔注射全身麻醉, 腹部正中切口, 逐层分离进腹后, 于幽门处切断十二指肠, 缝闭十二指肠和幽门的切口. 在Treitz韧带远端10 cm处切断空肠, 远端空肠直接和横越幽门切迹垂线, 靠近胃大弯的前侧壁行肠端侧吻合, 近端空肠与吻合口远端10 cm处行肠端侧吻合. 仔细排列肠道顺序, 避免扭转. 所有吻合均采用无创伤绵纶线间断缝合, 用含2×10^4 U的庆大霉素溶液冲洗, 检查出血情况和吻合口是否牢固后, 以大网膜覆盖后关腹. 术后24 h开始给予食物和饮水, 注意大鼠保暖. 手术以术后存活72 h为成功标准. 待大鼠恢复之后, 对照组大鼠给予普通饲料, 高脂组大鼠给予脂肪含量为18%的高脂饲料, 均自由进食, 观察10 wk.

1.2.3 指标检测: 术前及术后每2 wk同一时间测体质量、平均进食量、空腹血糖; 术前及术后第10周检测糖耐量、血清胰岛素、GLP-1, 并计算胰岛素抵抗指数. 具体检测方法如下. (1)空腹血糖: 大鼠隔夜禁食12 h, 尾静脉取血并测定空腹血糖; (2)糖耐量实验: 禁食12 h, 一次性50%葡萄糖(2 g/kg体质量)灌胃, 分别于0、10、30、60、90、120 min采集大鼠尾静脉血检测血糖, 用曲线下面积评价糖耐量; (3)空腹血清胰岛素检测: 大鼠禁食过夜, 尾静脉取血0.5 mL立即加入装有DPP Ⅳ inhibitor 10 μL的试管中, 混匀, 静置30 min后4000 r/min离心10 min, 分离血清, 采用放射免疫法检测血清胰岛素; (4)胰岛素抵抗指数 = 空腹血糖×空腹血清胰岛素/22.5; (5)GLP-1: 采血后分离血清, 用ELISA法检测, 按试剂盒说明操作, 用酶标仪测量A值并计算浓度.

统计学处理 采用SPSS12.0统计软件进行数据分析, 各组实验数据均符合正态分布, 两组间各指标比较采用t检验, 同一组不同时间比较采用单向方差分析, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

所有大鼠手术均顺利完成, 无术中死亡, 术后72 h内对照组和高脂组各死亡2只大鼠. 对照组和高脂组的手术时间分别为94.2 min±13.7 min和90.8 min±5.7 min, 二者间差异无统计学意义(P>0.05).

2.1 进食量及体质量比较 高脂组大鼠在术后高脂饮食喂养开始后2 wk内食量较实验前有所下降, 且低于对照组, 其差异有统计学意义(t = 3.54, P<0.05), 2 wk后高脂组大鼠食量回升, 10 wk实验结束时对照组与高脂组大鼠进食量比较差异无统计学意义(t = 1.29, P>0.05)(表1).

到第10周实验结束时普通组与高脂组大鼠的体质量均较术前体质量有明显增加, 其差异有统计学意义(t = 5.17, P<0.05). 术后2 wk内高脂组部分大鼠出现体质量下降, 2 wk后大鼠的体质量逐渐开始增加, 6 wk后高脂组大鼠的体质量高于对照组, 第8、10周对照组和高脂组间体质量差异有统计学意义(t = 3.45和4.86, P<0.05)(表2).

2.2 糖代谢

2.2.1 空腹血糖: 对照组术后空腹血糖开始下降, 术后第2、4、6周分别由术前18.63 mmol/L±2.30 mmol/L下降到8.84 mmol/L±1.15 mmol/L、7.02 mmol/L±0.74 mmol/L、6.77 mmol/L±0.75mmol/L, 第8周后血糖值略升高, 而高脂组大鼠术后空腹血糖逐渐降低, 但随时间延长其下降幅度逐渐变小, 第6周检测时空腹血糖开始出现升高, 第10周实验观察结束时高脂组空腹血糖高于相应时间点对照组, 但差异无统计学意义(t = 2.03, P>0.05)(表3).

表 3 大鼠术前、术后空腹血糖变化 (n = 10, mmol/L)

分组	术前	术后2 wk	术后4 wk	术后6 wk	术后8 wk	术后10 wk
对照组	18.63 ± 2.30	8.84 ± 1.15	7.02 ± 0.74	6.77 ± 0.75	7.68 ± 1.02	8.12 ± 2.15
高脂组	19.11 ± 2.80	8.67 ± 0.68	8.13 ± 1.42	8.57 ± 0.86	8.92 ± 1.85	9.56 ± 5.70

表 4 胃旁路术前及术后10 wk大鼠糖耐量检测结果 (mmol/L)

分组		0 min	30 min	60 min	90 min	120 min
术前	对照组	17.4 ± 4.7	29.9 ± 3.1	32.4 ± 3.8	23.6 ± 2.5	20.7 ± 0.9
	高脂组	18.7 ± 2.1	30.8 ± 1.6	34.5 ± 2.3	24.1 ± 1.4	19.1 ± 1.7
术后10 wk	对照组	7.71 ± 1.6	14.2 ± 1.7	13.4 ± 2.2	11.0 ± 1.5	8.01 ± 0.9
	高脂组	9.11 ± 3.9	21.4 ± 3.3	18.7 ± 4.1	16.4 ± 3.2	9.87 ± 4.7

表 5 胃旁路术前及术后10 wk两组大鼠空腹胰岛素水平

分组	空腹血清胰岛素(mU/L)			胰岛素抵抗指数		
	术前	术后4 wk	术后10 wk	术前	术后4 wk	术后10 wk
对照组	21.33 ± 3.17	24.35 ± 2.18	24.75 ± 4.52	15.47 ± 3.51	4.21 ± 1.02	4.65 ± 1.48
高脂组	20.76 ± 4.22	25.08 ± 3.64	23.14 ± 5.20	16.24 ± 4.85	5.42 ± 2.11	7.36 ± 2.07

表 6 两组大鼠术前、术后血清GLP-1浓度变化 (pmol/L)

分组	术前	术后10 wk
对照组	8.15 ± 1.40	22.69 ± 3.87
高脂组	7.76 ± 0.84	39.33 ± 2.77

2.2.2 糖耐量: 术前两组间糖耐量AUC比较差异无统计学意义(t = 1.19, P>0.05). 在第10周实验结束时, 普通饲料(对照组)及高脂饲料(高脂组)喂养的2型糖尿病大鼠糖耐量均较术前下降(分别较实验前AUC减小11.5%和5.2%). 高脂组大鼠在10、30、60、90 min血糖值均高于对照组(较对照组AUC超过4.4%), 其中30 min和60 min差异有统计学意义(P<0.05, 表4).

2.2.3 空腹血清胰岛素水平及胰岛素抵抗指数: 在术前对照组和高脂组空腹胰岛素水平及胰岛素抵抗指数差异无统计学意义(t = 1.56和2.13, P>0.05), 在术后第4周时均较术前有所升高(t = 5.43和3.13, P<0.05), 进食一段时间后, 第10周时对照组空腹胰岛素水平和胰岛素抵抗指数无明显变化, 而高脂组空腹胰岛素水平下降、胰岛素抵抗指数升高, 但与术前差异仍有统计学意义(P<0.05, 表5).

2.3 GLP-1激素 术后第8周时对照组和高脂组大鼠的GLP-1均较术前升高(P<0.05), 而其中高脂组GLP-1浓度增加的更为显著, 且二者间差异亦有统计学意义(t = 6.19, P<0.05, 表6).

3 讨论

2型糖尿病是一种常见、多发的内分泌代谢疾病, 主要特征是不同程度的胰岛素抵抗和胰腺β细胞分泌功能受损[5]. 其复杂的发病过程使人类至今尚未找到根治的方法, 这就意味着患者需要终身接受治疗. 传统的内科治疗方案多为控制血糖的对症支持治疗, 并不能从根本上阻止甚至逆转糖尿病的进展. 胃旁路手术为2型糖尿病治疗开创了一条新的途径, 术后患者2型糖尿病得到改善甚至长期缓解[6]. Chikunguwo等[7]通过5年随访统计1993-2003年施行Roux-en-Y胃旁路术177例得出: 89%(157/177)胃旁路手术后2型糖尿病患者不需要药物来控制血糖而达到正常值. 国内一些学者使用保留胃容积的胃旁路手术治疗2型糖尿病, 也取得了不错的疗效[8]. 也有研究发现, Roux-en-Y胃旁路术后2型糖尿病患者的血糖、糖化血红蛋白、糖耐量、胰岛素及胰岛素敏感性不仅可以恢复正常, 而且能够控制甚至逆转糖尿病的进一步发展, 降低糖尿病相关并发症的发生率和死亡率, 提高患者的生

■应用要点
本研究在胃旁路术后给予大鼠不同的饮食, 比较观察糖尿病复发情况, 为2型糖尿病手术治疗机制及预后研究提供实验数据.

■名词解释
保留胃容积的胃旁路手术: 于幽门处切断十二指肠, 缝闭十二指肠和幽门的切口, 在Treitz韧带远端10 cm处切断空肠, 远端空肠直接和横越幽门切迹垂线, 靠近胃大弯的前侧壁行肠端侧吻合, 近端空肠与吻合口远端10 cm处行肠端侧吻合.

活质量[9,10]. 那么, 手术能否彻底治愈糖尿病, 完全摆脱药物依赖, 其预后是否可正常饮食. 本研究中通过对正常SD大鼠行保留胃容积的胃旁路手术, 术后大鼠食量短期即可恢复, 大鼠的体质量在第6周高脂组开始高于对照组, 可见胃旁路术虽然改变了肠道的顺序, 但高脂肪饮食的摄入仍然会导致体质量的增加. 说明胃部保留容积的大小, 主要是作用于体质量的减少. 对照组糖尿病大鼠在胃旁路手术后血糖开始明显下降, 术后4-8 wk血糖趋于稳定, 说明糖尿病症状的改善主要是在于肠道的因素, 胃肠道顺序的改变可改善糖尿病患者的糖代谢.

Chikunguwo等[7]研究发现, 经胃旁路手术治愈的糖尿病患者中41%(68/157)复发. 由于胃旁路手术是在不切除任何组织和器官的情况下, 通过缩小胃容量及旷置部分小肠, 减少进食量及部分小肠的吸收功能, 减轻胰岛素抵抗, 修复胰岛β细胞功能从而缓解2型糖尿病, 故推测糖尿病复发可能与患者术后饮食不节制, 缩小的胃逐渐扩大, 进食量逐渐增多, 胰岛再次处于过劳状态引起[11]. 在高脂肪饮食的诱导下正常的SD大鼠可以出现明显的糖耐量受损、胰岛素抵抗、高胰岛素、甘油三酯血症和肥胖[12]; 另外还有研究发现, 高脂喂养C57BL/6小鼠8 wk, 出现肥胖、糖耐量异常、高胰岛素血症和高瘦素血症[13]. 本研究中高脂组在胃旁路手术后采用高脂饲料自由进食, 大鼠空腹血糖虽有所升高, 但仍在正常范围内, 与普通饲料喂养大鼠相比差异并不显著; 在第10周实验结束时, 普通饲料及高脂饲料喂养的2型糖尿病大鼠糖耐量均较术前下降(分别较实验前AUC减小11.5%和5.2%). 可见无论在普通饲料还是高脂饲料喂养, 胃旁路术均可降低血糖, 改善糖耐量, 减轻胰岛素抵抗, 说明胃旁路手术不仅可以治疗2型糖尿病, 甚至有可能对预防糖代谢紊乱的复发具有一定作用. 这与上述研究并不完全一致. 对照组大鼠在进食量和体质量明显增加时血糖仍有所降低, 高脂组术后6 wk开始进食量及体质量增加非常明显, 而血糖仅轻微升高, 故推测胃肠道存在影响血糖、胰岛功能的新途径. 同时我们也发现, 尽管术后第10周时高脂组大鼠平均空腹血糖与对照组比较差异并不显著, 但其中有2只大鼠复发糖尿病(血糖值超过了13.6 mmol/L), 而这2只大鼠的进食量和体质量与其他大鼠比较并未有明显改变, 这提示胃旁路术对2型糖尿病大鼠术后血糖影响并不一致, 这是否可能与基因多态性或其他机制有关需要进一步实验研究, 将有助于胃旁路手术临床适应证的探讨.

目前, 胃旁路手术的机制倾向与肠-胰岛轴的分泌改变有关[14]. 肠道在食物特别是碳水化合物的刺激下通过增加和减少释放内分泌递质来促使胰岛素释放[15]. 本研究结果显示, 胃旁路术后2型糖尿病大鼠血糖下降(血清胰岛素水平、胰岛素抵抗指数).

同时血清GLP-1浓度较术前明显升高. 分析原因认为, 胃旁路手术通过改变肠道顺序使食物流经的途径发生变化, 前肠的旷置导致后肠前提而提早接触食物, 可刺激远端回肠的肠内分泌细胞(L细胞)分泌GLP-1, 从而起到改善2型糖尿病的作用[16]. 此外, 胃旁路术对糖尿病大鼠糖代谢的作用还可能与肠道环境、胃肠激素分泌等因素有关. 脂肪一直被认为是刺激GLP-1分泌的一种较强的营养物质, 其中甘油三酯水解为长链游离脂肪酸是关键一步, 抑制胰脂肪酶会减少餐后GLP-1的分泌[17]. 本研究中高脂组大鼠自由进食高脂饲料后血糖有所升高, 但并不显著, 而血清GLP-1浓度较术前及对照组均明显升高. 由此可见, 胃旁路术可恢复内源性GLP-1分泌, 使胰岛素抵抗减轻, 是高脂饮食诱导并未能引起严重的糖代谢紊乱的原因之一. 我们也推测, 胃旁路术也可能通过其他某种机制使糖尿病大鼠胰岛功能部分恢复或减少胰岛细胞凋亡来缓解2型糖尿病复发.

总之, 胃旁路手术可以降低2型糖尿病大鼠的血糖, 在正常进食后血糖仅轻度升高, 而在高脂饮食刺激下同样未见严重糖代谢紊乱. 虽然在动物实验中已证实胃旁路术治疗2型糖尿病的作用, 但在临床中应用胃旁路手术治疗2型糖尿病患者, 尤其是非肥胖型2型糖尿病患者, 尚缺乏大型、前瞻性临床随机、对照研究, 手术的长期效益及风险仍有待评估, 特别是对一些长期并发症的研究仍需观察研究.

4 参考文献

1 Mokdad AH, Ford ES, Bowman BA, Dietz WH, Vinicor F, Bales VS, Marks JS. Prevalence of obesity, diabetes, and obesity-related health risk factors, 2001. *JAMA* 2003; 289: 76-79 [PMID: 12503980 DOI: 10.1001/jama.289.1.76]
2 White S, Brooks E, Jurikova L, Stubbs RS. Long-term outcomes after gastric bypass. *Obes Surg* 2005; 15: 155-163 [PMID: 15802056 DOI: 10.1007/s00103-006-0047-z]
3 American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes--2011. *Diabetes Care* 2011; 34

Suppl 1: S11-S61 [PMID: 21193625 DOI: 10.2337/dc11-S011]
4 Mangat R, Su J, Scott PG, Russell JC, Vine DF, Proctor SD. Chylomicron and apoB48 metabolism in the JCR: LA corpulent rat, a model for the metabolic syndrome. *Biochem Soc Trans* 2007; 35: 477-481 [PMID: 17511632 DOI: 10.1042/BST0350477]
5 Stumvoll M, Goldstein BJ, van Haeften TW. Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. *Lancet* 2005; 365: 1333-1346 [PMID: 15823385 DOI: 10.1016/S0140-6736(05)61032-X]
6 Black C, Donnelly P, McIntyre L, Royle PL, Shepherd JP, Thomas S. Meglitinide analogues for type 2 diabetes mellitus. Cochrane Database Syst Rev 2007; (2): CD004654 [PMID: 17443551 DOI: 10.1002/14651858.CD004654.pub2]
7 Chikunguwo SM, Wolfe LG, Dodson P, Meador JG, Baugh N, Clore JN, Kellum JM, Maher JW. Analysis of factors associated with durable remission of diabetes after Roux-en-Y gastric bypass. *Surg Obes Relat Dis* 2010; 6: 254-259 [PMID: 20303324 DOI: 10.1016/j.soard.2009.11.003]
8 刘升平, 莫朝晖, 王国慧, 张大伟, 朱晒红. 腹腔镜下改良Roux-en-Y胃空肠转流术治疗2型糖尿病: 附11例报告. 中国普通外科杂志 2009; 18: 1171-1174
9 Clements RH, Gonzalez QH, Long CI, Wittert G, Laws HL. Hormonal changes after Roux-en Y gastric bypass for morbid obesity and the control of type-II diabetes mellitus. *Am Surg* 2004; 70: 1-4; discussion 4-5 [PMID: 14964537]
10 Aylwin S. Gastrointestinal surgery and gut hormones. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity* 2005; 12: 89-98 [DOI: 10.1097/01.med.0000152979.05456.b6]
11 Meirelles K, Ahmed T, Culnan DM, Lynch CJ, Lang CH, Cooney RN. Mechanisms of glucose homeostasis after Roux-en-Y gastric bypass surgery in the obese, insulin-resistant Zucker rat. *Ann Surg* 2009; 249: 277-285 [PMID: 19212182 DOI: 10.1097/SLA.0b013e3181904af0]
12 Raher MJ, Thibault HB, Buys ES, Kuruppu D, Shimizu N, Brownell AL, Blake SL, Rieusset J, Kaneki M, Derumeaux G, Picard MH, Bloch KD, Scherrer-Crosbie M. A short duration of high-fat diet induces insulin resistance and predisposes to adverse left ventricular remodeling after pressure overload. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008; 295: H2495-H2502 [PMID: 18978196 DOI: 10.1152/ajpheart.00139.2008]
13 Anini Y, Brubaker PL. Role of leptin in the regulation of glucagon-like peptide-1 secretion. *Diabetes* 2003; 52: 252-259 [PMID: 12540594 DOI: 10.2337/diabetes.52.2.252]
14 邓治洲, 王烈, 林忆阳, 王瑜. 胃转流术对非肥胖型2型糖尿病的疗效观察及其对胰高血糖样肽1的影响. 中国普外基础与临床杂志 2009; 244: 466- 469
15 Bose M, Oliván B, Teixeira J, Pi-Sunyer FX, Laferrère B. Do Incretins play a role in the remission of type 2 diabetes after gastric bypass surgery: What are the evidence? *Obes Surg* 2009; 19: 217-229 [PMID: 18820978 DOI: 10.1007/s11695-008-9696-3]
16 Mason EE. Ileal [correction of ilial] transposition and enteroglucagon/GLP-1 in obesity (and diabetic?) surgery. *Obes Surg* 1999; 9: 223-228 [PMID: 10484306 DOI: 10.1381/096089299765553070]
17 Ellrichmann M, Kapelle M, Ritter PR, Holst JJ, Herzig KH, Schmidt WE, Schmitz F, Meier JJ. Orlistat inhibition of intestinal lipase acutely increases appetite and attenuates postprandial glucagon-like peptide-1-(7-36)-amide-1, cholecystokinin, and peptide YY concentrations. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93: 3995-3998 [PMID: 18647814 DOI: 10.1210/jc.2008-0924]

■同行评价
本文立题新颖, 对于临床进行胃肠旁路手术进行糖尿病治疗有很好的指导意义, 是一篇非常有临床意义的实验研究.

编辑 田滢 电编 鲁亚静

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

世界华人消化杂志 2013年6月18日; 21(17): 1660-1663
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

非酒精性脂肪肝患者脂联素基因–4522位点的单核苷酸多态性

张 炜, 朱丽群, 蒋小猛, 曹 亮, 程兆明, 徐 岷

■背景资料
胰岛素抵抗是非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)发生发展的基础, 血脂联素水平的降低与胰岛素抵抗, 脂联素基因-4522位点单核苷酸多态性, 目前还不清楚该基因位点多态性与NAFLD的关系.

张炜, 朱丽群, 蒋小猛, 曹亮, 程兆明, 徐岷, 江苏大学附属医院消化科 江苏省镇江市 212001
张炜, 副主任医师, 主要从事肝脏病学的基础与临床研究.
江苏大学临床医学科技发展基金资助项目, No. JLY20080001
作者贡献分布: 此课题由张炜设计; 研究过程由蒋小猛与曹亮操作完成; 资料收集整理由朱丽群完成; 数据统计分析由蒋小猛与程兆明完成; 本论文写作由张炜完成; 徐岷全程提供指导.
通讯作者: 张炜, 副主任医师, 212001, 江苏省镇江市解放路438号, 江苏大学附属医院消化内科 . zw8839200@163.com
电话: 0511–88839200
收稿日期: 2013–04–14 修回日期: 2013–05–15
接受日期: 2013–05–19 在线出版日期: 2013–06–18

The -4522 C/G single nucleotide polymorphism of the adiponectin gene in patients with nonalcoholic fatty liver disease

Wei Zhang, Li-Qun Zhu, Xiao-Meng Jiang, Liang Cao, Zhao-Ming Cheng, Min Xu

Wei Zhang, Li-Qun Zhu, Xiao-Meng Jiang, Liang Cao, Zhao-Ming Cheng, Min Xu, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang 212001, Jiangsu Province, China
Supported by: the Clinical Medical Scientific and Technological Development Fund of Jiangsu University, No. JLY20080001
Correspondence to: Wei Zhang, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Jiangsu University, 438 Jiefang Road, Zhenjiang 212001, Jiangsu Province, China. zw8839200@163.com
Received: 2013-04-14 **Revised:** 2013-05-15
Accepted: 2013-05-19 **Published online:** 2013-06-18

Abstract

AIM: To detect the relationship between the -4522 C/G single nucleotide polymorphism of the adiponectin gene and nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD).

METHODS: In total, 140 patients with NAFLD and 100 normal controls were included in the study. Patients with NAFLD were further divided into a normal glucose metabolism group and a disordered glucose metabolism group based on the results of oral glucose tolerance test (OGTT). The adiponectin gene -4522 C/G single nucleotide polymorphism and plasma adiponectin levels were measured in all subjects.

RESULTS: The C/C, C/T and T/T genotypes were found in 19.36%, 50.00% and 30.64% of NAFLD patients with normal glucose metabolism, and in 34.00%, 52.00% and 14.00% of controls, respectively. The frequency of T/T genotype in NAFLD patients with normal glucose metabolism was significantly higher than that in controls. The C/C, C/T and T/T genotypes were found in 12.86%, 39.29% and 47.86% of NAFLD patients with disordered glucose metabolism, respectively. The frequency of T/T genotype in NAFLD patients with normal glucose metabolism was significantly lower than that in patients with disordered glucose metabolism.

CONCLUSION: The -4522 C/G single nucleotide polymorphism of the adiponectin gene may play an important role in the development of NAFLD. The T allelic frequency is high in NAFLD patients with disordered glucose metabolism.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Nonalcoholic fatty liver disease; Adiponectin; Single nucleotide polymorphism; Glycometabolism disorder

Zhang W, Zhu LQ, Jiang XM, Cao L, Cheng ZM, Xu M. The -4522 C/G single nucleotide polymorphism of the adiponectin gene in patients with nonalcoholic fatty liver disease. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(17): 1660-1663
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1660.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i17.1660

摘要

目的: 探讨脂联素基因-4522位点单核苷酸多态性与非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的关系.

方法: 将140例NAFLD患者按口服葡萄糖耐量试验(oral glucose tolerance test, OGTT)进一步分为糖代谢正常组和异常组, 正常健康对照组

■同行评议者
迟宝荣, 教授, 吉林大学第一医院消化内科

100例. 检测血清脂联素, 并且采用PCR-RFLP技术对脂联素基因-4522 C/T进行基因分型.

结果: 正常人群C/C、C/T、T/T基因型比例为34.00%、52.00%、14.00%, T等位基因频率40.00%; 糖耐量正常组C/C、C/T、T/T基因型比例为19.36%、50.00%、30.64%, T等位基因频率55.65%. 与正常人群对比差异有显著性; 糖耐量异常组C/C、C/T、T/T基因型比例为12.86%、39.29%、47.86%, T等位基因频率76.92%. 与糖耐量正常组对比差异有显著性.

结论: 脂联素基因-4522位点存在单核苷酸多态性, NAFLD患者T等位基因频率高, T/T基因型者更易发生糖耐量异常.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 非酒精性脂肪肝; 脂联素; 单核苷酸多态性; 糖代谢异常

核心提示: 非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的患病与血清脂联素水平相关, 脂联素基因-4522位点存在单核苷酸多态性, T基因型者血清脂联素最低, 易于发生糖代谢异常, NAFLD患者TT基因型最常见.

张炜, 朱丽群, 蒋小猛, 曹亮, 程兆明, 徐岷. 非酒精性脂肪肝患者脂联素基因-4522位点的单核苷酸多态性. 世界华人消化杂志 2013; 21(17): 1660-1663 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1660.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i17.1660

0 引言

非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的发病机制很复杂, 胰岛素抵抗是其发生发展的基础. 血脂联素水平的降低与代谢综合征及胰岛素抵抗呈正相关[1,2]. 脂联素基因外显子存在多态性. 脂联素基因-4522位点单核苷酸多态性与NAFLD关系的研究, 国内鲜见.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2010-10/2011-11在我院就诊的NAFLD患者140例, 均符合2006年中华医学会肝脏病学分会提出的诊断标准[3], 男77例, 女63例. 所有患者否认就诊病前有糖尿病史及糖尿病家族史. 140例患者, 进行口服葡萄糖耐量试验(oral glucose tolerance test, OGTT)(75 g葡萄糖粉), 依OGTT结果, 将NAFLD患者分为糖代谢正常组和异常组; 另外选取在我院健康体检人员中随机选取我市无脂肪肝、心脑血管疾病、糖代谢异常、脂代谢异常的正常人100例, 作为健康对照组.

表 1 患者血清脂联素的比较

分组	*n*	血清脂联素(mg/L)
健康对照组	100	10.77 ± 2.46
糖代谢正常NAFLD组	62	7.46 ± 2.33
糖代谢异常NAFLD组	78	5.01 ± 1.72
NAFLD组	140	6.10 ± 2.31

NAFLD: 非酒精性脂肪肝.

1.2 方法 抽取空腹静脉血2 mL, 部分分离血清, 其中0.2 mL用ELASA法测定血脂联素浓度. 取剩余静脉血, 用酚/氯仿法提取DNA. 从GenBank中查取人脂联素基因序列, SNP -4522 C/T基因位点的rs号码为822393. 用Primer3软件进行在线引物设计, 并且经过多次修正, 设计引物如下: Forward primer 5'-GTTCTGACTTCCAAATC-GGTG-3', Reverse primer 5'-CATTAGAGT-CAAAAGCAGGGC-3'. 以上引物由上海生工生物工程公司设计并合成, -20 ℃保存. PCR扩增(PCR循环参数: 94 ℃预变性4 min, 94 ℃变性30 s, 61 ℃退火30 s, 57 ℃延伸30 s; 循环34次, 最后72 ℃延伸10 min); 扩增产物226 bp以限制性内切酶*Hinf* Ⅰ酶切(37 ℃, 16 h); 酶切产物进行3%琼脂糖电泳; EB染色, 成像, 以此判定基因型.

统计学处理 采用SPSS11.5统计分析软件进行数据处理. 基因型和等位基因的比较用χ^2检验. 血脂联素浓度为计量资料用mean±SD表示, 两样本均数的比较用*t*检验. $P<0.05$为有显著性差异.

2 结果

2.1 OGTT检测结果 根据OGTT检测结果, 140例NAFLD患者中合并糖代谢正常组有62例(44.3%), 糖代谢异常组有78例(55.7%), 其中合并糖尿病45例(32.1%), 葡萄糖耐量降低33例(23.6%).

2.2 各组脂联素比较 NAFLD患者血清脂联素水平低于健康对照组($t = 15.05$, $P<0.05$); 其中合并糖代谢异常者血清脂联素水平降低更明显, 与糖耐量正常的NAFLD差异有统计学意义($t = 7.33$, $P<0.05$)(表1).

2.3 -4522 C/T基因位点单核苷酸多态性 C/T基因型表现为217、144、73 bp 3条带. C/C基因型为

■研发前沿
NAFLD的发病机制是该领域的研究热点, 同时脂联素基因多态性研究较多, 但两者之间关系的研究较少.

■相关报道
血脂联素降低与NAFLD的发生、发展有关. 脂联素基因-4522位点存在C/T多态性, 与胰岛素抵抗, 2型糖尿病以及冠心病有关, 而且在我国表现尤其突出.

■创新盘点
脂联素基因-4522位点单核苷酸多态性与NAFLD的关系, 两者相关性国内外近年来有一定研究, 该文样本量较大, 且以糖耐量异常分组, 具有一定的创新性.

表 2 研究对象的基因型频率

分组	*n*	基因型*n*(%)		
		CC	CT	TT
健康对照组	100	34(34.00)	52(52.00)	14(14.00)
糖代谢正常NAFLD组	62	12(19.36)	31(50.00)	19(30.64)
糖代谢异常NAFLD组	78	6(7.69)	24(30.77)	48(61.54)
NAFLD组	140	18(12.86)	55(39.29)	67(47.86)

NAFLD: 非酒精性脂肪肝.

表 3 研究对象的等位基因频率

分组	*n*	等位基因频率n(%)	
		C	T
健康对照组	100	120(60.00)	80(40.00)
糖代谢正常NAFLD组	62	55(44.35)	69(55.65)
糖代谢异常NAFLD组	78	36(23.08)	120(76.92)
NAFLD组	140	91(32.50)	189(67.50)

NAFLD: 非酒精性脂肪肝.

144、73、9 bp 3条带, 但是9 bp不清晰, 所以表现为两条. T/T基因型为217、9 bp两条, 但是9 bp不清晰, 所以表现为一条条带(图1).

NAFLD患者TT基因型最常见, TT基因型频率明显高于健康对照组(χ^2 = 29.90, P<0.05); CC基因型频率明显低于健康对照组(χ^2 = 15.36, P<0.05); CT基因型频率也低于健康对照组, 但无统计学意义(χ^2 = 3.18, P>0.05).

NAFLD患者中糖代谢异常者TT基因型频率明显高于糖代谢正常者(χ^2 = 13.21, P<0.05); CC基因型频率低于糖代谢正常者(χ^2 = 4.19, P<0.05); CT基因型频率也低于糖代谢正常者(χ^2 = 5.36, P<0.05, 表2).

NAFLD患者T等位基因频率明显高于健康对照组(χ^2 = 35.81, P<0.05); NAFLD患者中糖代谢异常者T等位基因频率明显高于糖代谢正常者(χ^2 = 14.26, P<0.05, 表3).

2.4 脂联素与基因型的关系 在所有240个研究对象中TT基因型者血清脂联素最低, CC基因型者血清脂联素最高. 两者对比有统计学差异(t = 31.93, P<0.05, 表4).

3 讨论

NAFLD是一种无过量饮酒史的以肝实质细胞脂肪变性和脂肪贮积为特征的临床病理综合征包括单纯性脂肪肝、非酒精性脂肪性肝炎、肝硬化甚至肝细胞癌[4]. 随着肥胖症及其相关代谢紊乱在我国的流行, NAFLD同样成为我国发达地区和富裕阶层的常见病[5,6].

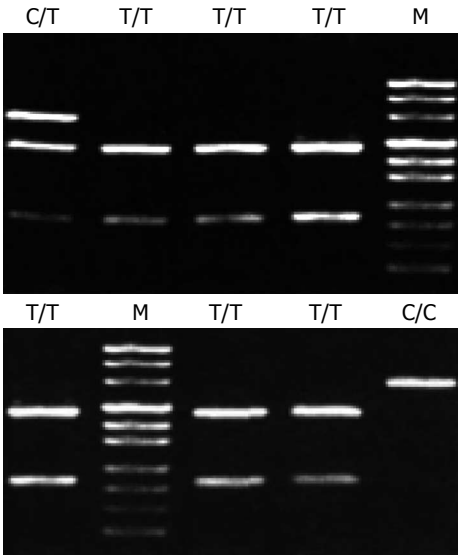


图 1 PCR产物酶切电泳图.

NAFLD的发病机制具有多样性, 胰岛素抵抗是其发生发展的基础, 与糖代谢异常密切相关[7]. 本研究显示NAFLD患者糖代谢异常的发生率高达55.7%. 与此前我们的研究结果类似[8]. 脂联素是一种近几年新发现的脂肪细胞因子, 具有增加胰岛素敏感性和抗炎性的作用. 非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)患者中的血清脂联素水平降低[9], 脂联素受体的肝内表达和肝脏炎症和纤维化呈负相关[10]. 脂联素敲除的小鼠, 会发生肝脂肪变和线粒体功能损害, 这致使小鼠易于遭受脂肪肝病的二次打击[11]. 本研究表明NAFLD患者血清脂联素低于正常水平, 合并糖代谢异常者更加低, 这提示胰岛素抵抗、糖代谢异常与血清脂联素水平密切相关.

■应用要点
建立相关地区正常人群脂联素基因-4522位点基因型频率和等位基因频率的资料, 可以为正常人提供NAFLD及代谢综合征的发病预警. 还可以为其他相关学科如心血管科和内分泌科研究低脂联素相关性疾病提供基础.

表 4 不同基因型研究对象的脂联素水平

基因型	*n*	血清脂联素(mg/L)
CC	52	12.23 ± 1.63
TT	81	4.66 ± 1.11
CT	107	8.57 ± 2.19

测定血浆脂联素浓度可作为常规项目开展, 指导本地区的临床医师对非酒精性脂肪肝患者作出正确的评估.

已有研究发现脂联素基因外显子存在多态性, 并且已经证实其中多数与肥胖, 胰岛素抵抗, 2型糖尿病有关. 如脂联素+276、R112C、I164T、I221S、I241P、+45等[12-14]. 脂联素基因-4522 C/T该基因位点是近年发现的, 其单核苷酸多态性与肥胖, 胰岛素抵抗, 2型糖尿病以及冠心病有关, 而且在我国表现尤其突出[15]. 本研究结果显示脂联素基因-4522位点存在单核苷酸多态性, NAFLD患者TT基因型最常见, T等位基因频率高. 糖代谢异常者TT基因型频率明显高于糖代谢正常者, 表明T/T基因型者更易发生糖耐量异常. 通过对比基因型与脂联素水平的关系, 发现TT基因型者血清脂联素最低.

总之, NAFLD的患病与血清脂联素水平相关, 但是脂联素降低是NAFLD发生、发展的始动因素还是必然结果, 目前尚不明确. 脂联素基因-4522位点存在单核苷酸多态性, 据此找出一个人类NAFLD的易感性基因位点, 并且可以为其他相关学科如心血管科和内分泌科研究低脂联素相关性疾病提供基础. 若能够扩大样本量, 多地区多单位合作, 其结果更加可靠. 同时可以建立相关地区正常人群脂联素基因-4522位点基因型频率和等位基因频率的资料, 可以为正常人提供NAFLD及代谢综合征的发病预警.

4 参考文献

1 Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N, Hara K, Ueki K, Tobe K. Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *J Clin Invest* 2006; 116: 1784-1792 [PMID: 16823476]

2 Yang WS, Chuang LM. Human genetics of adiponectin in the metabolic syndrome. *J Mol Med* (Berl) 2006; 84: 112-121 [PMID: 16389553 DOI: 10.1007/s00109-005-0011-7]

3 中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南. 中华肝脏病杂志 2006; 14: 161-163

4 Moore JB. Non-alcoholic fatty liver disease: the hepatic consequence of obesity and the metabolic syndrome. *Proc Nutr Soc* 2010; 69: 211-220 [PMID: 20158939 DOI: 10.1017/S0029665110000030]

5 Fan JG, Saibara T, Chitturi S, Kim BI, Sung JJ, Chutaputti A. What are the risk factors and settings for non-alcoholic fatty liver disease in Asia-Pacific? *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 794-800 [PMID: 17498218 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2007.04952.x]

6 Fan JG. [Advances in research on nonalcoholic fatty liver disease]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2008; 16: 801-803 [PMID: 19032857 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.10.010]

7 Watanabe S, Yaginuma R, Ikejima K, Miyazaki A. Liver diseases and metabolic syndrome. *J Gastroenterol* 2008; 43: 509-518 [PMID: 18648737 DOI: 10.1007/s00535-008-2193-6]

8 张炜, 范钰, 朱丽群, 程兆明. 非酒精性脂肪肝糖代谢异常与超敏C反应蛋白的关系. 世界华人消化杂志 2008; 16: 319-321

9 Shimada M, Kawahara H, Ozaki K, Fukura M, Yano H, Tsuchishima M, Tsutsumi M, Takase S. Usefulness of a combined evaluation of the serum adiponectin level, HOMA-IR, and serum type IV collagen 7S level to predict the early stage of nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 1931-1938 [PMID: 17511754]

10 Kaser S, Moschen A, Cayon A, Kaser A, Crespo J, Pons-Romero F, Ebenbichler CF, Patsch JR, Tilg H. Adiponectin and its receptors in non-alcoholic steatohepatitis. *Gut* 2005; 54: 117-121 [PMID: 15591515]

11 张征波, 孙晓琦, 钱斐. 脂联素在非酒精性脂肪肝中的作用及机制. 世界华人消化杂志 2011; 19: 2036-2042

12 Ohashi KL, Culkar J, Riebman JB, Estes M, Constantz BR, Yoganathan AP. Hemodynamic characterization of calcified stenotic human aortic valves before and after treatment with a novel aortic valve repair system. *J Heart Valve Dis* 2004; 13: 582-592; discussion 592 [PMID: 15311864]

13 Lacquemant C, Froguel P, Lobbens S, Izzo P, Dina C, Ruiz J. The adiponectin gene SNP+45 is associated with coronary artery disease in Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabet Med* 2004; 21: 776-781 [PMID: 15209773]

14 Filippi E, Sentinelli F, Romeo S, Arca M, Berni A, Tiberti C, Verrienti A, Fanelli M, Fallarino M, Sorropago G, Baroni MG. The adiponectin gene SNP+276G& gt; T associates with early-onset coronary artery disease and with lower levels of adiponectin in younger coronary artery disease patients (age & lt; or=50 years). *J Mol Med* (Berl) 2005; 83: 711-719 [PMID: 15877215]

15 Liu H, Chen S, Zhang S, Xiao C, Ren Y, Tian H, Li X. Adiponectin gene variation -4522C/T is associated with type 2 diabetic obesity and insulin resistance in Chinese. *J Genet Genomics* 2007; 34: 877-884 [PMID: 17945166]

■同行评价

本文探讨脂联素基因-4522位点单核苷酸多态性与NAFLD的关系, 样本量较大, 且以糖耐量异常分组具有一定的创新性, 结果、结论较明确, 能较好地反映我国该领域研究的先进水平.

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2013年6月18日; 21(17): 1664-1669
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

精准肝切除治疗原发性肝癌临床疗效的系统评价

李振华, 侯元凯, 张 东

■背景资料
原发性肝癌(primary liver cancer, PLC)由于其病因及发病机制的复杂, 近年来我国学者在肝癌的病因、病理、侵袭性生长的机制等方面进行了大量、系统的工作, 随着现代医学的发展, 确立了以外科为主的综合治疗原则. 精准肝切除治疗PLC有大量的文献报道其疗效显著.

李振华, 侯元凯, 张东, 兰州军区乌鲁木齐总医院肝胆外科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000
李振华, 在读硕士, 主要从事肝胆疾病的研究.
作者贡献分布: 此课题由李振华、侯元凯及张东共同设计; 研究过程由李振华与侯元凯操作完成; 数据分析、论文写作由李振华与侯元凯完成.
通讯作者: 张东, 主任医师, 硕士生导师, 830000, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市天山区友好北路359号, 新疆维吾尔自治区兰州军区乌鲁木齐总医院肝胆外科. zhangdongmed@126.com
收稿日期: 2013-03-31 修回日期: 2013-05-06
接受日期: 2013-05-12 在线出版日期: 2013-06-18

Efficacy of precise hepatectomy in treatment of primary liver cancer: A Meta-analysis

Zhen-Hua Li, Yuan-Kai Hou, Dong Zhang

Zhen-Hua Li, Yuan-Kai Hou, Dong Zhang, Department of Hepatobiliary Surgery, Urumqi General Hospital of Lanzhou Military Region, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Correspondence to: Dong Zhang, Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, Urumqi General Hospital of Lanzhou Military Region, 359 Youhao North Road, Tianshan District, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. zhangdongmed@126.com
Received: 2013-03-31 Revised: 2013-05-06
Accepted: 2013-05-12 Published online: 2013-06-18

Abstract

AIM: To assess the efficacy of precise hepatectomy in the treatment of primary liver cancer (PLC).

METHODS: PubMed, Chinese Biomedical Database (CBM), CNKI and Wanfang databases were searched to identify randomized controlled trials and controlled trials that assessed the efficacy of precise hepatectomy and traditional irregular hepatectomy in treatment of primary liver cancer. RevMan 5.1 software was used for statistical analysis of intraoperative, postoperative and prognostic measures.

RESULTS: A total of five studies involving 580 patients were included. Meta-analysis showed that compared with the traditional irregular hepatectomy group, length of hospital stay [MD = -2.63, 95%CI: -3.59--1.67, $P < 0.00001$], rate of positive margins [OR = 0.12, 95%CI: 0.04-0.41, $P = 0.0007$], complications [OR = 0.37, 95%CI: 0.23-0.58, $P < 0.0001$], postoperative ALT [MD = -185.32, 95%CI: -355.58--15.06, $P = 0.03$] and AST [MD = -156.09, 95%CI: -230.62--81.56, $P < 0.0001$], 1-year recurrence rate [OR = 0.43, 95%CI: 0.28-0.66, $P = 0.0001$], and 1-year survival rate of year [OR = 1.92, 95%CI: 1.19-3.11, $P = 0.008$] were better in the precise hepatectomy group. However, there were no significant differences between the two groups in the operative time, intraoperative blood loss, average rate of perioperative blood transfusion, and postoperative albumin and total bilirubin (all $P > 0.05$).

CONCLUSION: Precise hepatectomy is more safe and effective than traditional irregular hepatectomy in the treatment of primary liver cancer. Due to the poor quality and small sample size of included trials, more well-designed randomized controlled trails should be performed.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Primary liver cancer; Precise hepatectomy; Meta-analysis

Li ZH, Hou YK, Zhang D. Efficacy of precise hepatectomy in treatment of primary liver cancer: A Meta-analysis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(17): 1664-1669
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1664.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i17.1664

摘要

目的: 系统评价精准肝切除对治疗原发性肝癌(primary liver cancer, PLC)的临床疗效.

方法: 计算机检索Pubmed、中国生物医学数据库(Chinese BioMedical literature database on disc, CBM)、CNKI及万方数据库关于精准肝切除与传统不规则肝切除治疗PLC的随机对照试验及临床对照试验. 运用RevMan 5.1软件对两种手术方式在术中、术后及预后疗效指标进行Meta分析.

结果: 共纳入1个随机对照试验和4个临床对

■同行评议者
麻勇, 副研究员, 哈尔滨医科大学附属第一医院肝脏外科

照试验, 共580例患者. 精准肝切除与传统不规则肝切除相比, 显著缩短了住院时间[MD = -2.63, 95%CI: -3.59--1.67, P<0.00001], 降低了切缘残存率[OR = 0.12, 95%CI: 0.04-0.41, P = 0.0007], 加快了术后谷丙转氨酶与谷草转氨酶恢复[MD = -185.32, 95%CI: -355.58--15.06, P = 0.03]与[MD = -156.09, 95%CI: -230.62--81.56), P<0.0001], 减少了总并发症发生率[OR = 0.37, 95%CI: 0.23-0.58, P<0.0001], 降低了1年复发率[OR = 0.43, 95%CI: 0.28-0.66, P = 0.0001], 提高了1年生存率[OR = 1.92, 95%CI: 1.19-3.11, P = 0.008], 而手术时间、术中出血量、围手术期平均输血率、术后白蛋白、总胆红素恢复无显著差别(均P>0.05).

结论: 现有的研究表明, 精准肝切除治疗PLC在临床疗效上具有创伤小、恢复快, 更加安全和有效, 但是由于数量少, 期待更多高质量的试验提供高质量的证据.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 原发性肝癌; 精准肝切除; Meta分析

核心提示: 精准肝切除是治疗原发性肝癌(primary liver cancer)的一种新式手术方式, 具有“微创”的特点, 本研究表明, 精准肝切除与传统不规则肝切除在术中、术后及预后比较中具有明显优势.

李振华, 侯元凯, 张东. 精准肝切除治疗原发性肝癌临床疗效的系统评价. 世界华人消化杂志 2013; 21(17): 1664-1669
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1664.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i17.1664

0 引言

原发性肝癌(primary liver cancer, PLC), 简称肝癌, 是我国最常见的恶性肿瘤之一[1]. 目前治疗PLC的首选、最有效的方法是手术切除[2]. 1888年德国外科医生Langenbuch成功完成世界首例肝脏切除术, 标志着肝脏外科的诞生. 随着医学的发展和科技的进步, 肝切除也经历了楔形肝切除、规则性肝切除、不规则性肝切除等阶段[3]. 近年来, 我国学者范上达院士将精准肝切除的理念与技术[4]应用于活体肝移植手术以来, 精准肝切除在临床上的以“微创”特征使其日益受到关注. 然而, 各研究组间得出的结论并不一致. 因此我们用Cochrane系统评价的方法来分析精准肝切除治疗PLC的临床疗效及预后价值, 进一步用来指导临床实践.

1 材料和方法

1.1 材料 检索2008-01/2012-12 PubMed、中国生物医学数据库(Chinese BioMedical literature database on disc, CBM)、CNKI及万方数据库. 查阅所有文献的参考文献, 并手工检索相关文献. 文献仅限中英文, 英文检索词: liver cancer、primary liver cancer、liver neoplasms、precise hepatectomy、precise liver resection; 中文检索词: 原发性肝癌、肝切除、精准肝切除、不规则肝切除.

1.2 方法

1.2.1 数据提取及评价: 收集文献由两名研究人员独立完成, 排除明显不符合的文献后, 对可能纳入标准的文献进一步阅读来确定, 交叉核实, 对难以确定的文献采取讨论分析解决, 必要时询问第3名研究者意见. 根据Cochrane Reviewer's Hoodbook 5.0评价纳入文献质量: (1)是否正确进行随机分配; (2)是否有分配隐藏方案; (3)是否采用盲法; (4)是否描述失访、退出, 若有失访或退出时是否进行意向性分析. 若以上4条均满足为A级; 若1条或1条以上为不清楚为B级; 若1条或1条以上为不正确为C级.

1.2.2 纳入和排除标准: 纳入标准: (1)研究设计类型: 随机对照试验及临床对照试验; (2)研究对象: 通过临床表现、影像学检查或者病理学检查明确诊断为PLC的患者, 并符合手术指征; (3)干预措施: 实验组病例行精准肝切除术, 对照组病例行传统不规则肝切除术; (4)原始文献需提供数据. 排除标准: (1)原始文献计数或计量资料不完整, 或不能通过计数获得; (2)无原始数据或无法查找到原文的文献; (3)研究样本量过少, 病例数少于20例; (4)纳入的对象未采用精准肝切除术或者传统不规则肝切除术.

1.2.3 临床疗效指标: 手术时间、术中出血量、围手术期平均输血率、住院时间、切缘癌残留率、术后谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)、白蛋白(albumin, AIb)、总胆红素(total bilirubin, TB)峰值、总并发症发生率、肿瘤1年复发率、1年生存率.

统计学方法 采用Review Manager 5.1软件进行Meta分析. 二分类变量采用OR及其95%CI, 连续性变量采用MD及其95%CI. χ^2检验分析个研究间的统计学异质性, 同质性好的研究(P>0.05, I^2<50%)采用固定效应模型进行Meta分

■研发前沿
系统评价是目前研究的热点, 精准肝切除治疗PLC具有显著优势, 但目前国内PLC临床研究主要集中在病例报道和回顾性研究, 而前瞻性RCT较少, 论证力度较弱, 研究结果难以得到推广应用.

■相关报道
江涛等通过对精准肝切除治疗肝脏肿瘤的研究, 较传统肝切除具有显著的优势.

表 1 纳入文献基本特征

作者	研究类型	n(男/女) 精准组	n(男/女) 传统组	失访/随访(n)	随访时间(mo)	肝硬化(n)	HBsAg(n)	肝功能分级	文献评价
许戈良等[5]	CCTs	43/10	59/13	34/125	12	42/61	43/60	A/B	B
仇毓东等[6]	CCTs	47/7	39/10	22/103	12	–	47/38	A/B	B
宋天强等[7]	RCTs	42	44	0/86	12	36/39	29/31	A/B	B
安东均等[8]	CCTs	21	38	0/59	12	53	48	A/B	B
张洪义等[9]	CCTs	120/6	76/5	0/207	36	–	–	A/B	B

表 2 术中及术后各种情况的比较

	病例数(n) 精准组	病例数(n) 传统组	异质性检验	模型	OR/MD及其95%CI	P值
手术时间	179	153	$P<0.00001$, $I^2=99\%$	随机	28.80(–99.37,156.98)	0.66
术中出血量	296	284	$P<0.00001$, $I^2=94\%$	随机	–155.36(–312.32,1.59)	0.05
围手术期平均出血量	221	197	$P=0.06$, $I^2=64\%$	随机	0.73(0.44,1.21)	0.23
住院时间	179	153	$P=0.26$, $I^2=21\%$	固定	–2.63(–3.59,–1.67)	0.00001
切缘残存率	128	159	$P=0.87$, $I^2=0\%$	固定	0.12(0.04,0.41)	0.0007
术后肝功能						
ALT	107	121	$P=0.03$, $I^2=79\%$	随机	–185.32(–355.58,–15.06)	0.03
AST	75	87	$P=0.54$, $I^2=0\%$	固定	–156.09(–230.62,–81.56)	0.0001
Alb	180	130	$P=0.001$, $I^2=93\%$	随机	1.99(–1.93, 5.91)	0.32
TB	107	121	$P=0.10$, $I^2=62\%$	随机	–5.48(–10.93,–0.03)	0.05
总并发症	296	284	$P=0.47$, $I^2=0\%$	固定	0.37(0.23,0.58)	0.0001
1 年复发率	234	233	$P=0.83$, $I^2=0\%$	固定	0.43(0.28,0.66)	0.0001
1 年生存率	234	233	$P=0.99$, $I^2=0\%$	固定	1.92(1.19,3.11)	0.008

ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶; Alb: 白蛋白; TB: 总胆红素.

析; 如有异质性, 先分析异质性来源, 若个研究间无明显临床异质性, 可采用随机效应模型合并分析. 如纳入的数据不能进行Meta分析时, 则采用描述性分析.

2 结果

2.1 纳入文献分析 按照检索策略共获得相关文献193篇(英文48篇, 中文145篇), 进一步阅读后排除不符合纳入标准的文献, 最终纳入文献5篇[5-9](均为中文, 表1). 1篇随机对照试验, 4篇临床对照试验. 纳入研究患者580例, 精准肝切除术296例, 传统不规则肝切除术284例. 文献质量评价均为B级.

2.2 临床疗效分析

2.2.1 手术时间: 2项研究[5,9]报道了手术时间, 异质性检验表明研究间的差异有统计学意义($P<0.00001$, $I^2=99\%$), 采用随机模型得到效应指标的合并MD值及其95%CI. Meta分析两组手术时间差异无统计学意义[28.80(-99.37,156.98), $P=0.66$, 表2].

2.2.2 术中出血量: 5项研究[5-9]报道了术中出血量, 异质性检验表明研究间的差异有统计学意义($P<0.00001$, $I^2=94\%$), 采用随机模型得到效应指标的合并MD值及其95%CI. Meta分析两组术中出血量差异无统计学意义[-155.36(-312.32,1.59), $P=0.05$, 表2].

2.2.3 围手术期平均输血率: 3项研究[5,7,9]报道了围手术期平均输血率, 异质性检验表明研究间的差异无统计学意义($P=0.06$, $I^2=64\%$), 采用随机模型得到效应指标的合并OR值及其95%CI. Meta分析两组围手术期平均输血率差异无统计学意义[0.73(0.44, 1.21), $P=0.23$, 表2].

2.2.4 住院时间: 2项研究[5,9]报道了住院时间, 异质性检验表明研究间的差异无统计学意义($P=0.26$, $I^2=21\%$), 采用固定模型得到效应指标的合并MD值及其95%CI. Meta分析两组住院时间差异有统计学意义[-2.63(-3.59, -1.67), $P<0.00001$, 表2]. 两组比较, 精准组住院时间更短.

2.2.5 切缘残余率: 3项研究[5,6,8]报道了切缘残余

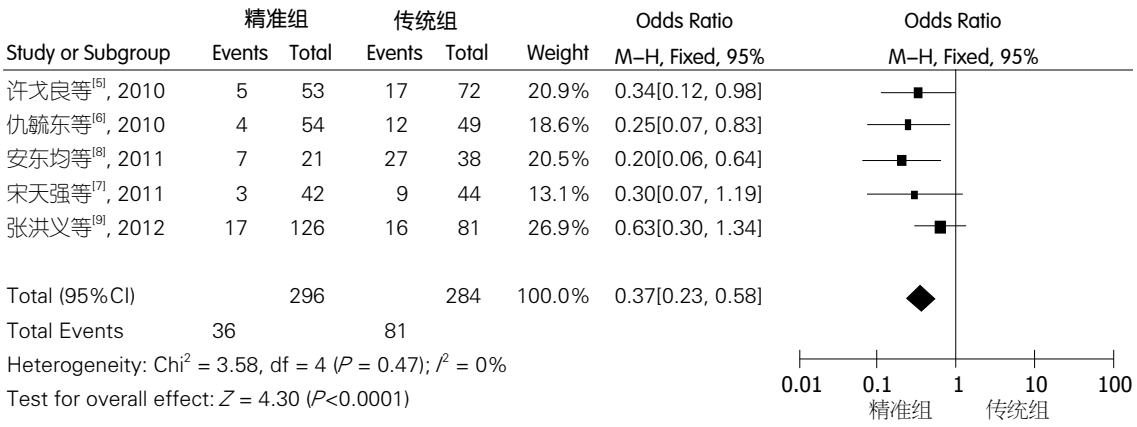


图 1 精准组与传统组术后总并发症比较.

率, 异质性检验表明研究间的差异无统计学意义(P = 0.87, I^2 = 0%), 采用固定模型得到效应指标的合并OR值及其95%CI. Meta分析两组切缘残余率差异有统计学意义[0.12(0.04,0.41), P = 0.0007, 表2]. 精准组较传统组切除肿瘤完整率更高.

2.3 预后价值分析

2.3.1 术后肝功能恢复: 2项ALT研究[5,6]间有异质性(P = 0.03, I^2 = 79%), 采用随机效应模型, 精准组与传统组间的差异有统计学意义[-185.32(-355.58, -15.06), P = 0.03]. 2项AST研究[6,8]间无异质性(P = 0.54, I^2 = 0%), 采用固定效应模型, 精准组与传统组间的差异有统计学意义[-156.09(-230.62, -81.56). P<0.0001]. 2项AIb研究[6,9]间有异质性(P = 0.001, I^2 = 93%), 采用随机效应模型, 精准组与传统组间的差异无统计学意义[1.99(-1.93, 5.91), P = 0.32]. 2项TB研究[5,6]间有异质性(P = 0.10, I^2 = 62%), 采用随机效应模型, 精准组与传统组间的差异无统计学意义[-5.48(-10.93, -0.03), P = 0.05, 表2].

2.3.2 总并发症: 5项研究报道[5-9]总并发症, 异质性检验表明研究间的差异无统计学意义(P = 0.47, I^2 = 0%), 故采用固定效应模型得到效应指标的合并OR值及其95%CI. Meta分析两组总并发症差异有统计学意义[0.37(0.23, 0.58), P<0.0001]. 从中可以看出, 精准组术后总并发症发生率明显低于传统组(图1).

2.3.3 1年复发率: 5项研究[5-9]报道了1年复发率, 异质性检验表明研究间的差异无统计学意义(P = 0.83, I^2 = 0%), 故采用固定效应模型得到效应指标的合并OR值及其95%CI. Meta分析两组1年复发率差异有统计学意义[0.43(0.28, 0.66), P = 0.0001]. 从中可以看出, 精准组术后肿瘤1年复发率明显低于传统组(图2, 表2).

2.3.4 1年生存率: 5项研究[5-9]报道了1年生存率, 异质性检验表明研究间的差异无统计学意义(P = 0.99, I^2 = 0%), 故采用固定效应模型得到效应指标的合并OR值及其95%CI. Meta分析两组1年生存率差异有统计学意义[1.92(1.19,3.11), P = 0.008]. 从中可以看出, 精准组术后1年生存率明显高于传统组(表2, 图3).

2.4 发表偏倚分析 理论上若漏斗图不对称或者不完整, 则可能存在发表偏倚. 本系统评价用总并发症发生率进行漏斗图分析, 漏斗图不对称, 发表偏倚可能存在(图4).

3 讨论

3.1 纳入文献结果分析 精准肝切除是建立在人文医学和循证医学兴起的背景下, 以高度发达生物医学和信息科学技术支撑, 在追求彻底清除目标病灶的同时最大限度控制手术出血和全身性创伤侵袭, 最终使手术患者获得最佳康复效果的一种手术方式. 这种手术方式主要借助于高度发展的影像采集图片后利用计算机三维成像, 了解肝脏病灶与周围血管、胆管的关系, 制订出最佳的手术方式, 从而到达精准的效果. 从上述结果中可以看出, 精准肝切除术后有利于肝功能的恢复, 减少了患者住院时间, 减少了并发症的发生率, 提高了1年肿瘤复发率及生存率, 然而在手术时间、术中出血量、围手术期平均输血率等方面则无显著差异. 蔡茂红等[10]报道了28例精准肝切除和20例传统不规则切除治疗肝胆疾病患者, 认为精准肝切除术后肝功能恢复好, 可降低围手术期并发症发生率. 江涛等[11]报道了84例精准肝切除和59例传统不规则肝切除肝脏肿瘤患者行肝切除, 结果显示精准组手术时间显著长于传统

■同行评价

本文通过文献检索对精准肝脏外科技术理念的具体实施作以系统评价, 进一步明确了精准肝切除治疗PLC在术中、术后及预后的疗效高于传统不规则肝切除的原始结论, 具有一定的指导意义.

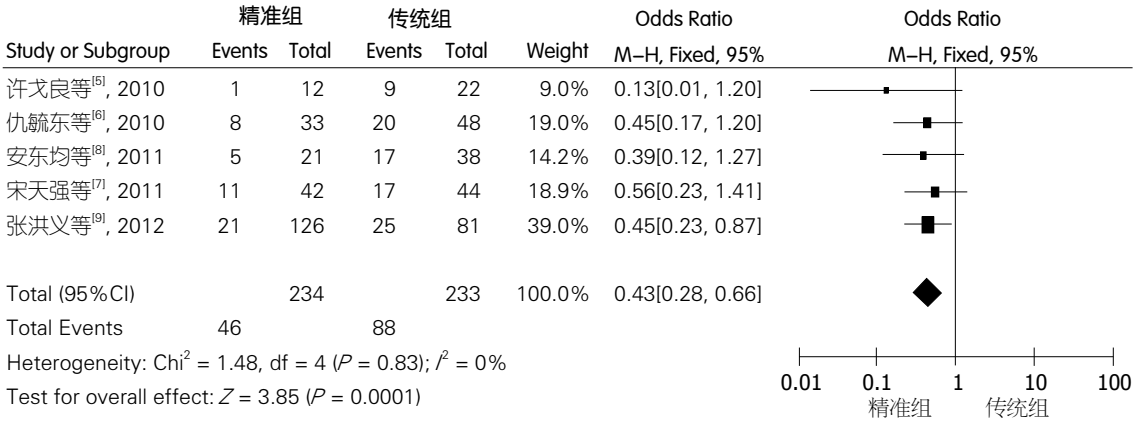


图 2 精准组与传统组术后1年复发率比较.

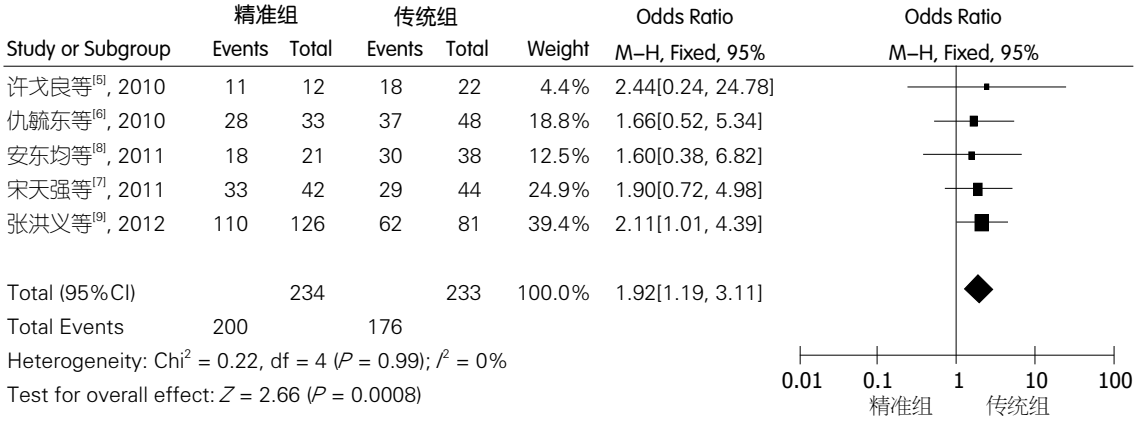


图 3 精准组与传统组术后1年生存率比较.

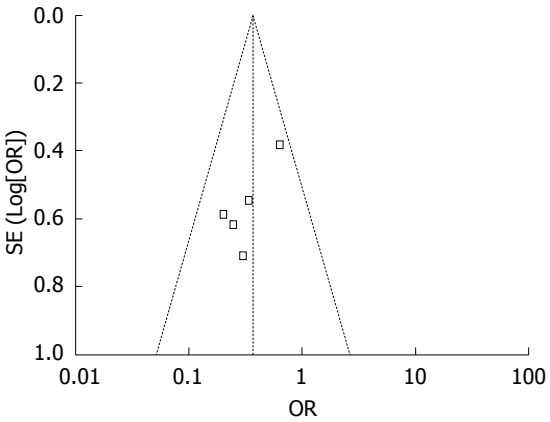


图 4 精准组与传统组术后总并发症的漏斗图分析.

组, 而术后AST、ALT、TB恢复, 精准组明显优于传统组; 精准组与传统组术后并发症发生率分别为10.7%和23.7%, 精准组明显优于传统组. 张洪义等[9]报道了126例精准肝切除和81例传统不规则肝切除术后1、2、3年的肿瘤复发率分别为: 17%(21/126)、22%(17/76)、26%(8/31)和%(25/81)、38%(27/71)、48%(31/65); 术后1、2、3年的生存率分别为: 87%(110/126)、87%(66/76)、84%(26/31)和7%(62/81)、75%(53/71)、60%(39/65), 两组治疗效果存在显著的差异. 董家鸿等[12]更是报道了精准肝脏外科技术在复杂肝脏占位病变切除中的运用, 具有重要的临床价值. 而手术时间、术中出血量及围手术期平均输血率各研究组不一致, 其影响因素可能有: (1)手术器械的选择: 随着科技的发展, 用于肝切除的手术器械越来越多, 合理的选择器械, 对手术有着重要的作用; (2)术前评估方法的差异: 传统评估肝脏储备功能的方法为生物化学检测和Child-Pugh评分, 而现在最新的肝脏储备功能的方法[13]为: (1)螺旋CT测量预留肝脏体积; (2)ICGl5'滞留率测定; (3)^{99}mTc-GSA核素显像技术.

精准肝切除术与传统不规则肝切除比较, 具有以下优点[14]: (1)减少创伤: 不阻断第一肝门或者选择性阻断避免了残余肝脏组织的缺血再灌注损伤; 同时精准肝切除对肝脏断面开放, 避免了对拢缝合导致的组织缺血坏死; 而传统不规

则肝切除均采用Pringle法阻断入肝血流, 用指捏或者钳夹法离断肝脏, 肿瘤切除后对拢缝合肝断面; (2)确保剩余肝脏的结构完整性: 术前运用影像技术对病灶进行精准的评估, 术中清晰的显露肝内血管及胆管结构, 避免了对重要血管、胆管及周围组织的损伤; (3)减少了术中出血量及术后并发症的发生: 通过对肝脏充分的暴露, 根据肝脏解剖精细的对血管及胆管进行处理, 减少了术中出血及术后并发症的发生, 提高了患者的生活质量; (4)降低了肿瘤复发率, 提高了患者生存率, 更符合无瘤原则[15]: 精准肝切除切除了肿瘤所在的叶或段, 减少了肝内传播的机率. 虽然精准肝切除有以上这些优点, 但是仍然不能盲目的采用这种手术方式, 对于复杂的肝切除, 外科医生应根据患者的具体情况, 权衡好手术的安全性与危险性[16].

3.2 本系统评价的局限性 本系统制订了严格的文献纳入标准及排除标准, 并由专业人员对文献的数据进行了仔细的核查. 通过系统评价对收集的数据进行合并和分析, 可信度较高. 但是本系统也有一定的局限性, 收集的文献均为中文, 且数量较少, 质量较差, 患者例数少, 研究质量在很大程度上受限于病历记载资料的不完整性, 降低了临床研究的科学性, 使得通过循证医学理论得出的结论也会出现偏差.

总之, 精准肝切除治疗PLC在术中、术后及预后的疗效高于传统不规则肝切除. 但是由于研究组实施的过程及方法存在差异, 因此我们期待更多高质量、大样本、多中心的研究来证实结论.

4 参考文献

1 吴在德. 原发性肝癌. 外科学. 第七版. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 518-522

2 Zhou XD, Tang ZY, Ma ZC, Fan J, Wu ZQ, Qin LX, Zhou J, Yu Y, Sun HC, Qiu SJ. Twenty-year survivors after resection for hepatocellular carcinoma-analysis of 53 cases. *J Cancer Res Clin Oncol* 2009; 135: 1067-1072 [PMID: 19294419 DOI: 10.1007/s00432-009-0546-z.Epub]

3 McClusky DA, Skandalakis LJ, Colborn GL, Skandalakis JE. Hepatic surgery and hepatic surgical anatomy: historical partners in progress. *World J Surg* 1997; 21: 330-342 [PMID: 9015180]

4 Fan ST. Precise hepatectomy guided by the middle hepatic vein. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2007; 6: 430-434 [PMID: 17690044]

5 许戈良, 荚卫东, 李建生, 马金良, 刘文斌, 葛勇胜, 余继海, 王伟. 应用精细肝脏外科理念治疗原发性肝癌53例. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1824-1828

6 仇毓东, 朱新华, 徐庆祥, 吴亚夫, 周建新, 丁义涛. 精准肝切除治疗原发性肝癌的疗效评价. 中华消化外科杂志 2010; 9: 21-23

7 宋天强, 李慧锴, 武强, 宋振国, 李强. 精准肝切除治疗原发性肝癌的安全性及有效性. 中华肝胆外科杂志 2011; 17: 547-549

8 安东均, 安琳, 张成, 门定坤. 精准肝切除与非规则性肝切除治疗肝癌的疗效分析. 中国普通外科杂志 2011; 20: 784-786

9 张洪义, 冯志强, 张宏义, 张辉, 肖梅, 甄玉英, 徐新保, 何晓军. 原发性肝癌精准序贯治疗的疗效分析. 中华消化外科杂志 2012; 11: 73-78

10 蔡茂红, 温尔刚. 精准肝切除的临床应用. 四川医学 2012; 33: 1201-1203

11 江涛, 王轩, 陆雷, 张冬华, 张荣生, 李增才, 张斌. 精准肝切除治疗肝脏肿瘤的疗效评价. 中国普通外科杂志 2011; 20: 665-668

12 董家鸿, 杨世忠, 段伟东, 纪文斌, 蔡守旺, 王敬, 史宪杰, 姜凯, 夏红天, 何蕾, 张文智, 黄晓强, 黄志强. 精准肝脏外科技术在复杂肝脏占位性病变切除中的应用. 中华外科杂志 2009; 47: 1610-1615

13 李建平、杨军. 精准肝切除研究进展. 中华肝胆外科杂志 2011; 17: 434-436

14 李齐根, 夏强, 张建军, 徐宁, 张明, 王鑫, 罗毅, 邢天宇. 精准肝切除的应用及其价值. 中华消化外科杂志 2010; 9: 24-27

15 Xiaobin F, Zipei L, Shuguo Z, Jiahong D, Xiaowu L. The Pringle manoeuvre should be avoided in hepatectomy for cancer patients due to its side effects on tumor recurrence and worse prognosis. *Med Hypotheses* 2009; 72: 398-401 [PMID: 19144472 DOI: 10.1016/j.mehy.2008.11.029]

16 Jagannath P, Chhabra DG, Shah R. Surgeon preferences for liver transection: is there an ideal technique? *J Am Coll Surg* 2010; 211: 141 [PMID: 20610263 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2010.02.046]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2013年6月18日; 21(17): 1670-1675
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

梗阻性黄疸患者肠黏膜损伤与肠黏膜IL-6、NF-κB、ICAM-1高表达的相关性

纪晨光, 姜慧卿

■背景资料
梗阻性黄疸是临床常见病, 尽管外科手术和内镜治疗水平有很大提高, 但是梗阻性黄疸的并发症及病死率并未明显下降. 梗阻性黄疸可导致肠黏膜屏障损伤, 引起肠道内细菌和内毒素易位, 从而引起一系列严重并发症.

纪晨光, 姜慧卿, 河北医科大学第二医院消化科 河北省消化病重点实验室 河北省消化病研究所 河北省石家庄市 050000
纪晨光, 在读博士, 主要从事消化系统疾病的临床研究.
河北省科技厅基金资助项目, No. 09276101D-25
作者贡献分布: 纪晨光与姜慧卿对此文所作贡献均等; 此课题由姜慧卿与纪晨光设计; 研究过程由姜慧卿与纪晨光操作完成; 研究所用试剂及分析工具由姜慧卿提供; 数据分析由纪晨光完成; 本论文写作由纪晨光完成.
通讯作者: 姜慧卿, 教授, 050000, 河北省石家庄市和平西路215号, 河北医科大学第二医院消化科. jianghq@aliyun.com
收稿日期: 2013-03-25 修回日期: 2013-04-25
接受日期: 2013-05-12 在线出版日期: 2013-06-18

High expression of IL-6, NF-κB and ICAM-1 in the intestinal mucosa is associated with intestinal mucosal injury in patients with obstructive jaundice

Chen-Guang Ji, Hui-Qing Jiang

Chen-Guang Ji, Hui-Qing Jiang, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Hebei Key Laboratory of Gastroenterology, Hebei Institute of Gastroenterology, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China
Supported by: the Nature Science Foundation of Hebei Province, No. 09276101D-25
Correspondence to: Hui-Qing Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, 215 Heping West Road, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China. jianghq@aliyun.com
Received: 2013-03-25 Revised: 2013-04-25
Accepted: 2013-05-12 Published online: 2013-06-18

Abstract

AIM: To observe the morphology and ultrastructure changes in the intestinal mucosa in patients with obstructive jaundice, and to investigate the relationship between the expression of interleukin-6 (IL-6), nuclear factor κB (NF-κB) and intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and intestinal mucosal injury.

METHODS: TThe morphology and ultrastructure changes in the intestinal mucosa in patients with obstructive jaundice were observed by light microscopy and electron microscopy, respectively. The expression of IL-6, NF-κB and ICAM-1 in the intestinal mucosa was detected using immunohistochemistry.

RESULTS: Light microscopy analysis revealed that, in patients with obstructive jaundice, the intestinal villi were arranged disorderly and became shorter or absent, the intervals of villi were widened, and necrosis of the enterocytes and glands were visible. Electron microscopy analysis showed that, although the junctional complexes appeared intact, the microvilli were loose, the enterocytes became flat, the mitochondria swelled up and even become vacuolated, and the mitochondrial cristae collapsed. In addition, it could be seen that bacteria were attached to the mucosa surface. The expression of IL-6, NF-κB and ICAM-1 in patients with obstructive jaundice was increased significantly compared with controls (IL-6: 0.18 ± 0.02, *vs* 0.13 ± 0.01, $P < 0.05$; NF-κB: 0.23 ± 0.01 *vs* 0.19 ± 0.03, $P < 0.05$; ICAM-1: 0.17 ± 0.01 *vs* 0.13 ± 0.02, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Intestinal mucosal injury in patients with obstructive jaundice is associated with high expression of IL-6, NF-κB and ICAM-1.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Obstructive jaundice; Intestinal mucosal injury; Iinterleukin-6; Nnuclear factor κB; Intercellular adhesion molecule-1

Ji CG, Jiang HQ. High expression of IL-6, NF-κB and ICAM-1 in the intestinal mucosa is associated with intestinal mucosal injury in patients with obstructive jaundice. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(17): 1670-1675 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1670.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i17.1670

摘要

目的: 观察梗阻性黄疸患者肠黏膜形态学及超微结构的变化, 探讨白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、核因子κB(nuclear factor

■同行评议者
袁建业, 副研究员, 上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

κB, NF-κB)、细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)与梗阻性黄疸患者肠黏膜损伤的关系.

方法: 应用光镜及电镜观察梗阻性黄疸患者肠黏膜形态学及超微结构的改变, 采用免疫组织化学方法检测肠黏膜IL-6、NF-κB和ICAM-1的表达情况.

结果: 梗阻性黄疸组肠黏膜光镜下表现为绒毛排列紊乱, 变短或缺失, 绒毛间距变宽, 并可见上皮细胞及腺体坏死. 电镜下表现为连接复合体尚完整, 但微绒毛明显稀疏, 上皮柱状细胞扁平, 线粒体肿胀、嵴断裂、甚至空泡样变, 并可见细菌黏附在黏膜表面. 免疫组织化学结果显示与无黄疸组相比, 梗阻性黄疸组肠黏膜IL-6、NF-κB、ICAM-1的阳性表达明显增高, 其平均光密度值分别为(IL-6: 0.18±0.02, 0.13±0.01, P<0.05; NF-κB: 0.23±0.01, 0.19±0.03, P<0.05; ICAM-1: 0.17±0.01, 0.13±0.02, P<0.05).

结论: 梗阻性黄疸患者肠黏膜IL-6、NF-κB和ICAM-1表达增加与其肠黏膜损伤机制相关.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 梗阻性黄疸; 肠黏膜损伤; 白介素-6; 核因子-κB; 细胞间黏附分子-1

核心提示: 本文对梗阻性黄疸患者小肠黏膜的大体形态和超微结构进行观察, 证实梗阻性黄疸患者肠黏膜存在损伤, 应用免疫组织化学方法检测发现肠黏膜白细胞介素-6(interleukin-6)、核因子κB(nuclear factor κB)、细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule-1)的表达增加, 说明其与肠黏膜损伤机制相关.

纪晨光, 姜慧卿. 梗阻性黄疸患者肠黏膜损伤与肠黏膜IL-6、NF-κB、ICAM-1高表达的相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21(17): 1670-1675 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1670.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i17.1670

0 引言

梗阻性黄疸患者可发生一系列严重并发症, 诸如败血症和肾功能衰竭等. 尽管缓解黄疸的外科手术和内镜治疗水平有很大提高, 但仍有较高的病死率, 其主要原因系患者肠黏膜屏障损伤, 肠道内细菌和内毒素通过受损肠黏膜进入血液循环, 产生一系列并发症. 目前对梗阻性黄疸时肠黏膜损伤的机制已有研究[1,2], 但其确切机制尚不完全清楚. 白介素-6(interleukin-6, IL-6)、核因子κB(nuclear factor κB, NF-κB)、细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)是重要的炎性介质, 直接或间接地介导炎症反应. 本研究通过观察梗阻性黄疸患者肠黏膜形态学及超微结构的变化, 检测肠黏膜IL-6、NF-κB和ICAM-1的表达, 探讨其与肠黏膜损伤的关系, 为梗阻性黄疸患者肠黏膜损伤的机制提供理论依据.

■研发前沿
对梗阻性黄疸所致肠黏膜损伤具体机制及预防策略仍是当前研究的重点.

1 材料和方法

1.1 材料 收集河北医科大学第二医院消化科行经内镜逆行胰胆管造影(encoscopic retrograde cholangio-pancreatography, ERCP)检查或治疗的胆道梗阻性患者30例, 其中有黄疸者15例, 男9例, 女6例, 年龄35-80岁, 血清总胆红素(total bilirubin, TB)88.2-384.2 μmol/L; 其中胆总管结石患者9例, 胆管癌患者6例. 无黄疸者15例, 男8例, 女7例, 年龄40-78岁, 血清总胆红素(total bilirubin, TB)7.5-20.3 μmol/L; 其中胆总管结石患者11例, 胆管癌患者4例. 本研究已报请伦理委员会批准, 所有患者均签署知情同意书. 黄疸患者纳入标准: (1)血清TB、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)及γ谷氨酰基转移酶(γ-glutamyltransferase, γ-GT)升高; (2)血清TB>43 μmol/L(正常范围高限的2倍); (3)ERCP、B型超声或CT等影像学检查结果显示有胆管梗阻的表现. 无黄疸者纳入标准: ERCP、B型超声或CT等影像学检查结果显示有胆管梗阻的表现但血清TB≤21.5 μmol/L. 排除标准: (1)曾行ERCP检查者(无论是否行支架置入术); (2)胆管炎、病毒性肝炎或肝硬化患者; (3)血、尿淀粉酶升高者, 消化系内镜检查中有其他病理发现, 如炎症性肠病等; (4)患有其他引起免疫抑制的系统性疾病, 如糖尿病, 风湿病, 血液病等. 实验试剂与仪器: 兔抗人IL-6、NF-κB、ICAM-1多克隆抗体、SP 9001试剂盒和DAB显色剂均购自北京中山生物技术有限公司. 肠黏膜形态学及超微结构标本的制作和观察, 应用德国莱卡公司的LEICA RM 2125石蜡切片机及UTC超薄切片机, 日本Olympus公司的CHK2-F-GS显微镜和日立公司的H750透射电镜.

1.2 方法

1.2.1 标本留取与处理: ERCP时于十二指肠乳头远端2-5 cm处, 用活检钳钳取肠黏膜组织4块. 其中2块组织10%福尔马林液固定, 常规梯度酒

■相关报道
王娜等通过测定恶性梗阻性黄疸患者肠黏膜紧密连接蛋白ZO-1、occludin及claudin-1的表达, 证实了恶性梗阻性黄疸患者小肠上皮紧密连接的破坏, 从而增加了肠黏膜通透性.

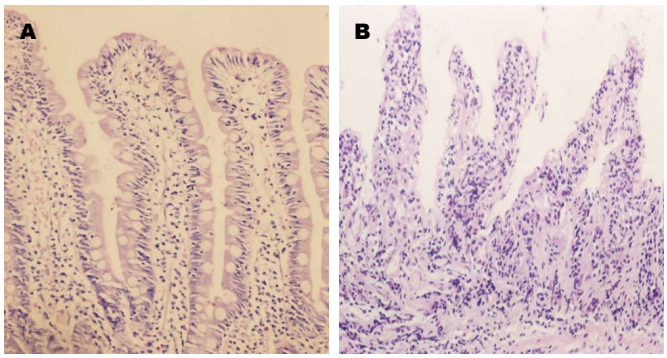


图 1 肠黏膜HE染色结果(HE × 200). A: 无黄疸组肠黏膜绒毛及上皮细胞排列整齐, 绒毛高度一致; B: 梗阻性黄疸组肠黏膜绒毛排列紊乱, 变短或缺失, 绒毛间距变宽.

精脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋, 保存同批测定. 实验时将石蜡包埋组织块连续切片, 厚度约为4 μm, 取4片蜡带裱普通载玻片上. 切片常规脱腊至水, 苏木精染色, 1%盐酸乙醇分化, 氨水促进切片蓝化, 伊红染色, 常规梯度乙醇脱水, 中性树胶封片. 光镜下观察肠黏膜形态学变化. 另钳取2块肠黏膜组织, 用生理盐水将黏膜冲洗干净, 新双面刀片将组织修成大小约1 mm×1 mm×2 mm的组织块, 将组织块固定于4%戊二醛, 并置于4 ℃冰箱中, 固定时间在2 h以上; 1/15 mol/L磷酸缓冲液浸洗3次以上或过夜, 然后用1%四氧化锇固定1-2 h, 1/15 mol/L磷酸缓冲液浸洗2次, 每次20 min. 随后应用50%、70%、80%、90%、100%丙酮Ⅰ、100%丙酮Ⅱ逐级脱水, 每次10-15 min. 将组织块置于纯丙酮和包埋剂按1∶1配成的混合液中1 h; 再将组织块置于纯丙酮和包埋剂按1∶3配成的混合液中3 h以上或过夜; 然后将组织块置于纯包埋剂中浸透5 h以上. 将组织块置于包埋剂中, 放入37 ℃温箱中12 h, 然后放入60 ℃烤箱中36-48 h. 应用UTC超薄切片机进行切片, 厚度约为50 nm, 应用醋酸双氧铀和枸橼酸铅双重染色. 在H750透射电镜下观察肠黏膜的超微结构.

1.2.2 肠黏膜IL-6、NF-κB和ICAM-1的测定: 应用免疫组织化学方法检验IL-6、NF-κB和ICAM-1表达, 阴性对照用PBS代替第一抗体, 同法进行染色. 免疫组织化学染色有棕黄色颗粒为阳性表达. 均用Motic Med 6.0数码医学图像分析系统在相同放大倍数下进行图像分析, 每个切片计数10个视野, 以阳性细胞染色的平均光密度值表示抗原表达量.

统计学处理 IL-6、NF-κB和ICAM-1的抗原表达量用mean±SD表示. 应用SPSS13.0统计软件进行*t*检验, $P<0.05$认为有统计学意义.

2 结果

2.1 光镜下肠黏膜形态学变化 无黄疸组肠黏膜绒毛及上皮细胞排列整齐, 绒毛高度一致; 梗阻性黄疸组肠黏膜绒毛排列紊乱, 变短或缺失, 绒毛间距变宽, 上皮细胞肿胀、排列紊乱, 并可见上皮细胞及腺体坏死(图1).

2.2 透射电镜下肠黏膜超微结构的变化 无黄疸组肠黏膜微绒毛排列密集, 连接复合体完整; 梗阻性黄疸组连接复合体尚完整, 但微绒毛明显稀疏, 上皮柱状细胞变扁平, 线粒体肿胀、嵴断裂甚至空泡样变, 并可见细菌黏附在黏膜表面(图2).

2.3 IL-6、NF-κB和ICAM-1在肠黏膜组织中的表达 IL-6阳性表达为细胞核及细胞浆呈棕黄色, 阳性细胞主要为炎性细胞、血管内皮细胞及上皮细胞. NF-κB主要在细胞核及细胞浆表达, 阳性细胞主要为中性粒细胞、血管内皮细胞及上皮细胞. ICAM-1主要定位于炎性细胞及腺体细胞的胞浆, 细胞浆呈棕黄色为阳性表达(图3). 采用Motic Med 6.0数码医学图像分析系统分析, 梗阻性黄疸组肠黏膜IL-6、NF-κB和ICAM-1平均光密度值分别为0.18±0.02、0.23±0.01、0.17±0.01, 高于无黄疸组0.13±0.01、0.19±0.03、0.13±0.02, 差异有统计学意义($P<0.05$).

3 讨论

肠黏膜除具消化吸收等功能外, 在防止感染方面也发挥重要作用. 正常情况下肠腔内细菌不能透过肠壁进入组织脏器, 这有赖于完善的肠道屏障功能. 临床上, 肠源性感染及内毒素血症是梗阻性黄疸患者的重要死因, 而肠黏膜屏障功能损害则是其发生的关键.

有研究表明胆汁对肠黏膜有营养作用, 其可增加小肠绒毛密度及黏膜层厚度[3,4]. 胆汁中的

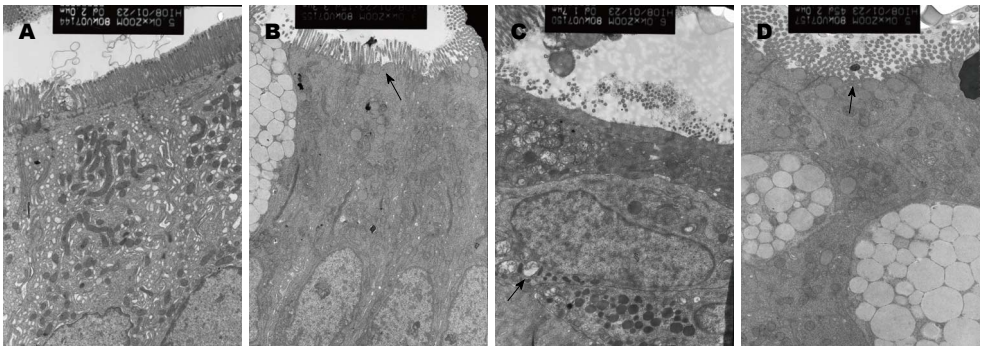


图 2 电镜下肠黏膜超微结构的变化. A: 无黄疸组肠黏膜微绒毛排列密集, 连接复合体完整(×5000); B: 梗阻性黄疸组微绒毛明显稀疏(×5000); C: 上皮柱状细胞变扁平, 线粒体肿胀、嵴断裂甚至空泡样变(×6000); D: 细菌黏附在黏膜表面(×5000).

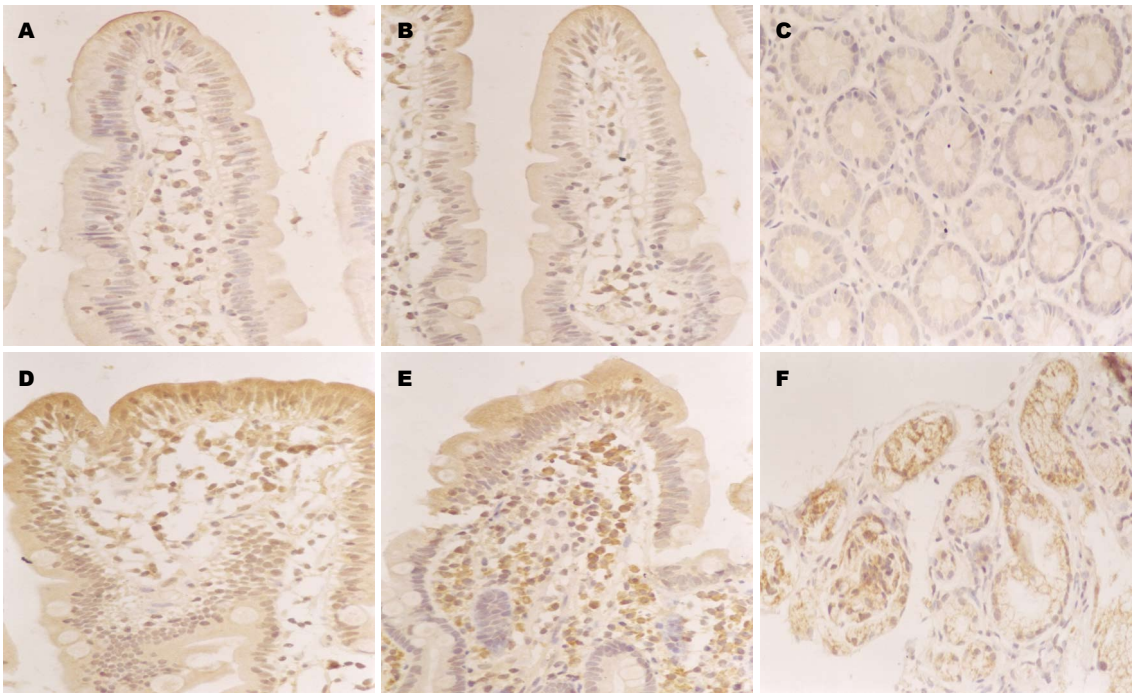


图 3 IL-6、NF-κB、ICAM-1免疫组织化学检测结果(×400). A-C: IL-6、NF-κB、ICAM-1在无黄疸组肠黏膜中的表达; D-F: IL-6、NF-κB、ICAM-1在梗阻性黄疸组在病例组肠黏膜中的表达, 可见三者的染色强度在梗阻性黄疸组均高于无黄疸组. IL-6: 白介素6; NF-κB: 核因子κB; ICAM-1: 细胞间黏附分子-1.

免疫球蛋白A(immunoglobulin A, IgA)及许多特异或非特异抗体, 能抑制细菌黏附于肠黏膜, 阻止细菌进入肠上皮细胞[5]. 最近的研究表明胆汁对维持肠上皮细胞间紧密连接的完整性至关重要[6,7]. 因此, 梗阻性黄疸时肠道内胆汁缺乏, 可使肠黏膜屏障防御功能下降, 通透性增高, 侵袭因素增加, 导致肠黏膜损伤.

本研究于光镜下观察梗阻性黄疸组肠黏膜, 可见绒毛排列紊乱, 变短或缺失, 绒毛间距变宽, 上皮细胞肿胀、排列紊乱, 并可见上皮细胞及腺体坏死. 电镜下发现梗阻性黄疸患者小肠黏膜微绒毛明显稀疏, 上皮柱状细胞变扁平, 线粒体肿胀、嵴断裂甚至空泡样变, 并可见细菌黏附在黏膜表面. 通过对梗阻性黄疸患者小肠黏膜的大体形态和超微结构的观察, 证实了梗阻性黄疸时肠黏膜的损伤, 虽然电镜下未发现连接复合体的明显破坏, 但肠黏膜微绒毛和线粒体已经可见明显的损伤, 从而引起肠黏膜屏障功能障碍. 另外, 电镜下可见细菌黏附在肠黏膜表面, 为细菌转移奠定了基础, 进一步导致全身炎症反应综合征、内毒素血症等并发症.

NF-κB是促炎基因表达的枢纽之一, 激活后可促进多种炎症介质如细胞因子、黏附分子和趋化因子等基因转录, 在炎症反应中起重要作

■创新盘点

本研究观察梗阻性黄疸患者肠黏膜的大体形态和超微结构, 证实了梗阻性黄疸患者存在肠黏膜损伤, 通过检测梗阻性黄疸患者肠黏膜白介素-6、核因子κB、细胞间黏附分子-1的表达, 说明炎症反应可能介导了梗阻性黄疸导致的肠黏膜损伤.

■应用要点
梗阻性黄疸患者肠黏膜存在损伤, 其损伤机制可能是多因素相互作用的结果, 并且尚需进一步研究, 在临床工作中可通过保护肠黏膜预防并发症, 降低病死率.

用. 急性胰腺炎或梗阻性黄疸时肠黏膜NF-κB表达增高, 可能与肠黏膜损伤有关[8-11]. IL-6系单核-巨噬细胞产生的糖蛋白, 是一种重要炎症介质. 有研究发现, 梗阻性黄疸大鼠内毒素刺激免疫细胞分泌IL-6增加, 后者可致其他细胞因子形成瀑布样激活[12]. ICAM-1是细胞间黏附分子的一种, 在炎症细胞黏附、聚集中起重要作用, 梗阻性黄疸大鼠肠黏膜及炎症性肠病患者的血清中均明显增加, 且与组织的炎症程度密切相关[12-15].

本研究结果显示, 梗阻性黄疸患者肠黏膜IL-6、NF-κB和ICAM-1表达均显著高于对照组. 说明三者参与了梗阻性黄疸患者肠黏膜的炎症反应, 可能介导了肠黏膜的损伤. 这些炎性介质和细胞因子可以相互促进. NF-κB激活后从基因转录水平调控ICAM-1表达增加, 诱导肿瘤坏死因子、IL-1、IL-6和干扰素-γ等炎性细胞因子释放; 这些炎性细胞因子又激活NF-κB, 形成恶性循环. 这些炎性细胞因子均具有细胞毒性作用, 可直接引起肠黏膜组织水肿及破坏, 诱导肠上皮细胞凋亡并破坏肠黏膜紧密连接, 减弱肠黏膜屏障的功能[16-18]. 肠黏膜屏障功能的衰竭为细菌、内毒素和炎性细胞因子的易位提供了便利条件.

本研究通过对梗阻性黄疸患者肠黏膜的大体形态和超微结构的观察, 证实了梗阻性黄疸时肠黏膜存在损伤. 梗阻性黄疸患者肠黏膜IL-6、NF-κB和ICAM-1表达增加, 说明其与肠黏膜损伤机制相关. 其增加的机制可能与细菌过度繁殖、内毒素释放增多导致这些炎性因子的释放有关, 这些增多的炎性因子引起肠黏膜的炎症反应, 破坏肠黏膜上皮的完整, 导致肠黏膜损伤, 通透性增加. 而血中升高的胆红素水平可导致皮肤、巩膜黄染, 是否会引起肠黏膜损伤, 目前没有相关的报道, 还需进一步研究. 另外梗阻性黄疸时还可通过氧化应激反应、细胞凋亡与增殖失衡和紧密连接破坏等因素导致肠黏膜损伤. 因此, 梗阻性黄疸时肠黏膜损伤是多因素相互作用的结果, 其损伤机制尚需进一步研究, 从而可以通过肠黏膜保护性干预降低相关并发症.

4 参考文献

1 Parks RW, Halliday MI, McCrory DC, Erwin P, Smye M, Diamond T, Rowlands BJ. Host immune responses and intestinal permeability in patients with jaundice. *Br J Surg* 2003; 90: 239-245 [PMID: 12555304 DOI: 10.1002/bjs.4029]

2 Wang N, Yu H, Ma J, Wu W, Zhao D, Shi X, Tian H, Jiang H. Evidence for tight junction protein disruption in intestinal mucosa of malignant obstructive jaundice patients. *Scand J Gastroenterol* 2010; 45: 191-199 [PMID: 20095884 DOI: 10.3109/00365520903406701]

3 Assimakopoulos SF, Vagianos CE, Patsoukis N, Georgiou C, Nikolopoulou V, Scopa CD. Evidence for intestinal oxidative stress in obstructive jaundice-induced gut barrier dysfunction in rats. *Acta Physiol Scand* 2004; 180: 177-185 [PMID: 14738476 DOI: 10.1046/j.0001-6772.2003.01229.x]

4 Parks RW, Stuart Cameron CH, Gannon CD, Pope C, Diamond T, Rowlands BJ. Changes in gastrointestinal morphology associated with obstructive jaundice. *J Pathol* 2000; 192: 526-532 [PMID: 11113871 DOI: 10.1002/1096-9896(2000)9999]

5 Wells CL, Jechorek RP, Erlandsen SL. Inhibitory effect of bile on bacterial invasion of enterocytes: possible mechanism for increased translocation associated with obstructive jaundice. *Crit Care Med* 1995; 23: 301-307 [PMID: 7867356 DOI: 10.1097/00003246-199502000-00016]

6 Yang R, Harada T, Li J, Uchiyama T, Han Y, Englert JA, Fink MP. Bile modulates intestinal epithelial barrier function via an extracellular signal related kinase 1/2 dependent mechanism. *Intensive Care Med* 2005; 31: 709-717 [PMID: 15782315 DOI: 10.1007/s00134-005-2601-9]

7 Assimakopoulos SF, Scopa CD, Charonis A, Spiliopoulou I, Georgiou C, Nikolopoulou V, Vagianos CE. Experimental obstructive jaundice disrupts intestinal mucosal barrier by altering occludin expression: beneficial effect of bombesin and neurotensin. *J Am Coll Surg* 2004; 198: 748-757 [PMID: 15110809 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2003.12.017]

8 Rakonczay Z, Hegyi P, Takács T, McCarroll J, Saluja AK. The role of NF-kappaB activation in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Gut* 2008; 57: 259-267 [PMID: 17675325 DOI: 10.1136/gut.2007.124115]

9 Zhang XP, Jiang J, Yu YP, Cheng QH, Chen B. Effect of Danshen on apoptosis and NF-κB protein expression of the intestinal mucosa of rats with severe acute pancreatitis or obstructive jaundice. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2010; 9: 537-546 [PMID: 20943465]

10 Zhang X, Chen L, Zhang J, Tian H, Zhang X, Zhou Y, Wang Z, Wang K. Effect of salvia miltiorrhizae on apoptosis and NF-kappaB p65 expression in the liver of rats with severe acute pancreatitis or obstructive jaundice. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 841-852 [PMID: 19067778 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05692.x]

11 Xiping Z, Dijiong W, Jianfeng L, Qihui C, Jing Y, Penghui J, Meijuan Y, Ninni Z. Effects of Salvia miltiorrhizae on ICAM-1, TLR4, NF-kappaB and Bax proteins expression in multiple organs of rats with severe acute pancreatitis or obstructive jaundice. *Inflammation* 2009; 32: 218-232 [PMID: 19434485 DOI: 10.1007/s10753-009-9124-4]

12 Badger SA, Jones C, McCaigue M, Clements BW, Parks RW, Diamond T, McCallion K, Taylor MA. Cytokine response to portal endotoxaemia and neutrophil stimulation in obstructive jaundice. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2012; 24: 25-32 [PMID: 22027701 DOI: 10.1097/MEG.0b013e32834b0dd3]

13 Akyürek N, Salman B, Irkörücü O, Tezcaner T, Azili C, Erdem O, Akca G, Akin O, Tatlicioglu E.

The effect of platelet activating factor antagonist BN 52021 on bacterial translocation and ICAM-I expression in experimental obstructive jaundice. *J Invest Surg* 2005; 18: 247-256 [PMID: 16249168 DOI: 10.1080/08941930500248805]
14 Adamska I, Czerwionka-Szaflarska M, Kulwas A, Mierzwa G, Bała G, Rość D. [Adhesion molecules of immunoglobin super family in children and youth with inflammatory bowel disease]. *Pol Merkur Lekarski* 2009; 26: 101-104 [PMID: 19388512]
15 Song WB, Lv YH, Zhang ZS, Li YN, Xiao LP, Yu XP, Wang YY, Ji HL, Ma L. Soluble intercellular adhesion molecule-1, D-lactate and diamine oxidase in patients with inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 3916-3919 [PMID: 19701972 DOI: 10.3748/wjg.15.3916]
16 Rao RK, Basuroy S, Rao VU, Karnaky Jr KJ, Gupta A. Tyrosine phosphorylation and dissociation of occludin-ZO-1 and E-cadherin-beta-catenin complexes from the cytoskeleton by oxidative stress. *Biochem J* 2002; 368: 471-481 [PMID: 12169098 DOI: 10.1042/BJ20011804]
17 Mankertz J, Amasheh M, Krug SM, Fromm A, Amasheh S, Hillenbrand B, Tavalali S, Fromm M, Schulzke JD. TNFalpha up-regulates claudin-2 expression in epithelial HT-29/B6 cells via phosphatidylinositol-3-kinase signaling. *Cell Tissue Res* 2009; 336: 67-77 [PMID: 19214581 DOI: 10.1007/s00441-009-0751-8]
18 Heller F, Florian P, Bojarski C, Richter J, Christ M, Hillenbrand B, Mankertz J, Gitter AH, Bürgel N, Fromm M, Zeitz M, Fuss I, Strober W, Schulzke JD. Interleukin-13 is the key effector Th2 cytokine in ulcerative colitis that affects epithelial tight junctions, apoptosis, and cell restitution. *Gastroenterology* 2005; 129: 550-564 [PMID: 16083712 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.05.002]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

■同行评价
本文通过光镜和电镜观察, 比较胆道梗阻有黄疸患者和胆道梗阻无黄疸患者肠黏膜损伤的情况, 具有很好的科学价值.

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》外文字符标准

本刊讯 本刊论文出现的外文字符应注意大小写、正斜体与上下角标. 静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服*po*, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P^H, *H pylori*不能写成HP, T1/2不能写成tl/2或$T_{\frac{1}{2}}$, *V*max不能Vmax, μ不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种. 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H.pylori*), *Ilex pubescens* Hook, *et* Arn.*var.glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数*K*; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验和概率*P*, 相关系数*r*); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*)如*n*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), 例如*n*-butyl acetate(醋酸正丁酯), *N*-methylacetanilide(N-甲基乙酰苯胺), *o*-cresol(邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline(3-O-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine(右旋苯丙胺), *l*-dopa(左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸). 拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*; Ibid, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m*(质量), *V*(体积), *F*(力), *p*(压力), *W*(功), *v*(速度), *Q*(热量), *E*(电场强度), S(面积), *t*(时间), *z*(酶活性, kat), *t*(摄氏温度, ℃), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq), ρ(密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L), φ(体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径), T_{max}, C_{max}, *V*d, $T_{1/2}$ *CI*等. 基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白.

世界华人消化杂志 2013年6月18日; 21(17): 1676-1680
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

凋亡调节因子Smac、Survivin在结肠腺癌中的表达及临床意义

宋国华, 李维山, 高凤兰

■背景资料
肿瘤的凋亡受阻是肿瘤发生发展的重要原因. 第二个线粒体来源的半胱氨酸酶的激活剂(the second mitochodria-derived activator of caspase, Smac)是一种凋亡促进蛋白, 通过与凋亡执行蛋白Caspase 3竞争性的结合凋亡抑制蛋白家族(inhibitor of apoptosis proteins, IAPs)如生存素(Survivin), 解除IAPs对Caspase 3的抑制作用, 从而促进细胞凋亡.

宋国华, 李维山, 高凤兰, 漯河医学高等专科学校 河南省漯河市 462000
李维山, 主治医生, 主要从事消化系肿瘤病理的研究.
河南省科技厅重点攻关基金资助项目, No. 092102310234
作者贡献分布: 李维山、高凤兰及宋国华对此文贡献均等; 此课题由高凤兰、宋国华及李维山设计; 研究过程、论文撰写由高凤兰与李维山共同完成; 宋国华提供实验仪器、试剂及数据分析工具, 指导论文撰写.
通讯作者: 宋国华, 教授, 462000, 河南省漯河市源汇区大学路148号, 漯河医学高等专科学校校长办公室.
songgh.lhmc@gmail.com
收稿日期: 2013-04-04 修回日期: 2013-04-22
接受日期: 2013-05-19 在线出版日期: 2013-06-18

Clinical significance of expression of Smac and Survivin in colon adenocarcinoma

Guo-Hua Song, Wei-Shan Li, Feng-Lan Gao

Guo-Hua Song, Wei-Shan Li, Feng-Lan Gao, Luohe Medical College, Luohe 462000, Henan Province, China
Supported by: the Foundation of Science and Technology Department of Henan Province, No. 092102310234
Correspondence to: Guo-Hua Song, Professor, Luohe Medical College, 148 Daxue Road, Yuanhui District, Luohe 462000, Henan Province, China. songgh.lhmc@gmail.com
Received: 2013-04-04 Revised: 2013-04-22
Accepted: 2013-05-19 Published online: 2013-06-18

Abstract

AIM: To investigate the expression of second mitochondria-derived activator of caspase (Smac) and inhibitor of apoptosis protein Survivin in adenocarcinoma of the colon and to analyze their clinical significance.

METHODS: The expression of Smac and Survivin was detected by immunohistochemistry on a tissue chip containing 10 normal colon mucosal specimens and 59 colon adenocarcinoma specimens.

RESULTS: The positive rate of Smac expression in colon adenocarcinoma was significantly lower than that in normal colon mucosal tissue (66.10% *vs* 100%, $P = 0.03$), but the positive rate of Survivin expression was significantly higher in colon adenocarcinoma than in normal colon mucosal tissue (69.49% *vs* 20%, $P = 0.001$). Expression of Smac and Survivin in colon adenocarcinoma was both correlated with pathological grade and lymph node metastasis (both $P < 0.05$), but not with tumor size, infiltration depth, or patient age (all $P > 0.05$). The expression of Smac had a significant negative correlation with that of Survivin in colon adenocarcinoma.

CONCLUSION: Low expression of Smac and high expression of Survivin closely correlate with lymph node metastasis and tumor pathological grade in colon adenocarcinoma. Expression of Smac positively correlates with that of Survivin in colon adenocarcinoma.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Colon tumor; Immunohistochemistry; Smac; Survivin; Tissue chip

Song GH, Li WS, Gao FL. Clinical significance of expression of Smac and Survivin in colon adenocarcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(17): 1676-1680 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1676.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i17.1676

摘要

目的: 探讨第二个线粒体来源的半胱氨酸酶的激活剂(the second mitochodria-derived activator of caspase, Smac)和生存素(Survivin)在结肠腺癌中的表达及其与临床参数之间的关系.

方法: 采用组织芯片技术及免疫组织化学SP两步法检测59例经病理确诊的结肠腺癌组织及10例癌旁正常组织中Smac蛋白和Survivin蛋白的表达.

结果: (1)Smac蛋白在结肠腺癌、癌旁正常组织中的表达率分别为66.10%(39/59), 100%(10/10), 差异具有统计学意义($P = 0.03$). Survivin蛋白在结肠腺癌、癌旁正常组织中

■同行评议者
郝立强, 副教授, 上海长海医院普外二科; 刘宝林, 教授, 中国医科大学附属盛京医院

的表达率分别为69.49%(41/59), 20.0%(2/10), 差异具有统计学意义(P = 0.01); (2)Smac蛋白和Survivin蛋白在结肠腺癌组织中的表达与患者结肠腺癌的分化程度及淋巴结转移有关(P<0.05), 但与患者的年龄、肿瘤的大小、浸润深度均无明显相关性(P>0.05); (3)Smac蛋白表达阳性的39例中, Survivin蛋白阳性表达23例, 占58.97%(23/39), Smac蛋白表达阴性的20例中, Survivin蛋白阳性表达18例, 占90.0%(18/20), 经统计学分析, 在结肠腺癌中, 两者的表达明显负相关(r = -0.319, P = 0.014).

结论: 在结肠腺癌中, Smac蛋白低表达, Survivin蛋白高表达, 两者明显负相关; Smac蛋白和Survivin蛋白的异常表达可能对结肠腺癌的发生发展及淋巴结转移起着至关重要的作用.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 结肠肿瘤; 免疫组织化学; Smac蛋白; Survivin蛋白; 组织芯片

核心提示: 第二个线粒体来源的半胱氨酸酶的激活剂(the second mitochodria-derived activator of caspase)蛋白在结肠腺癌中表达降低导致Survivin蛋白表达增高和/或活性增强可能与结肠腺癌的发生、发展以及淋巴结的转移密切相关.

宋国华, 李维山, 高凤兰. 凋亡调节因子Smac、Survivin在结肠腺癌中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(17): 1676-1680 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1676.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i17.1676

0 引言

研究表明肿瘤的发生发展与肿瘤细胞的凋亡紊乱有密切关系, 第二个线粒体来源的半胱氨酸酶的激活剂(the second mitochodria-derived activator of caspase, Smac)是一种重要的促凋亡因子, 可以与凋亡抑制蛋白家族(inhibitor of apoptosis proteins, IAPs)成员结合, 解除IAPs对含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶(cysteinyl aspartate specific proteinase, Caspase)的抑制从而促进细胞凋亡[1], 因此Smac在肿瘤细胞凋亡中有着极其重要的作用; 生存素(Survivin)蛋白是IAPs家族中最小的成员, 具有明显抑制细胞凋亡的作用, 两者在结肠腺癌中表达情况以及相关性的研究, 国内外报道不多, 本研究采用组织芯片技术结合免疫组织化学技术研究Smac和Survivin在结肠腺癌中的凋亡紊乱情况及其相关性, 并探讨两者对结肠腺癌发生发展的影响.

1 材料和方法

1.1 材料 本研究的病例选自漯河医专三附院及济源市人民医院2006-2012年存档蜡块. 59例结肠腺癌均经病理确诊. 患者年龄34-66岁, 平均45岁. 其中高分化腺癌24例, 中-低分化腺癌35例; 另随机选取10例癌旁正常结肠组织作为对照. 所有病例临床资料完整, 术前均未接受任何治疗; 兔抗人IgG多克隆抗体Smac购自北京博尔诚公司; 兔抗人IgG多克隆抗体Survivin、免疫组织化学SP两步法试剂盒以及DAB显色剂均购自北京中杉生物公司.

1.2 方法

1.2.1 组织芯片的制作: 在2.5 cm×2.0 cm的空白蜡块上, 用小电钻(钻头外径1.8 mm)构建间距2 mm的10×9个点阵. 所有选取的石蜡标本, 均在显微镜下定位后并用记号笔做上标记, 用改造过的内径为1.8 mm的腹穿针在有标记的区域穿刺, 取下圆柱状标本, 分别种植到制作好的对应的点阵中, 记录好标本所对应的病理编号. 然后在38 ℃恒温箱中烘烤2 h, 使钻取的组织与空白蜡块融合为一体. 切片时, 调整厚度为5 μm, 芯片信息完全丢失的病例, 使用完整石蜡切片.

1.2.2 免疫组织化学: 以已知阳性切片作为阳性对照, PBS替代一抗作为空白对照, 采用SP两步法, 严格按照免疫组织化学检测试剂盒说明书里的染色步骤进行染色: 将构建的芯片蜡块以5 μm厚连续切片, 常规脱腊至水, 在3%H_2O_2溶液中避光浸泡15 min以阻断内源性过氧化物酶活性, 然后置入有0.01 mol/L枸橼酸盐缓冲液(pH 6.0)的高压锅内进行抗原修复3 min(在高压锅开始喷气时开始计时), 自来水冲洗迅速冷却. 滴加一抗Survivin(1∶50), Smac(1∶500)后放入湿盒中孵育, 4 ℃冰箱中过夜, PBS充分洗涤, DAB显色. 苏木素复染, 盐酸乙醇分化, 脱水、透明、水溶性树脂封片, 光镜下观察.

1.2.3 结果分析和判断: 采用双盲法, 由两位高年资病理医师分别对免疫组织化学染色结果进行评判, Smac和Survivin蛋白阳性信号以细胞浆和/或细胞核出现淡黄色至棕黄色颗粒为阳性. 根据阳性细胞占实质细胞的百分比及着色程度判断结果: 无明显阳性反应细胞或阳性细胞数<10%为阴性; 有着色较强细胞或阳性细胞数>10%为阳性[2].

统计学处理 采用SPSS13.0软件包, 阳性率的对比采用χ^2检验和四格表确切概率法; 相关性检验采用Spearman等级相关分析. 当P<0.05时,

■研发前沿
本文章研究领域的热点是以IAPs如Survivin为靶点, 通过RNA干扰或者在肿瘤细胞内过表达Smac, 观察对肿瘤细胞凋亡的影响; 重点观察Smac与IAPs之间的互相作用. 未解决的问题: Survivin蛋白表达的减少导致Survivin蛋白表达增加的机制.

■相关报道
美籍华人王晓东课题组2000年发现并报道了一种线粒体来源的蛋白质Smac, 可以和IAPs结合, 促进细胞凋亡. 命名为Smac, 不久另外一个课题组也报道了一种功能类似的蛋白质, 命名为低等电点IAP直接结合蛋白(direct IAP-binding protein with low pI, DIABLO), 经对比研究, 两种蛋白质为同一种蛋白质, 因此该蛋白质又命名为: Smac/DIABLO.

■创新盘点
本文主要采用组织芯片技术结合免疫组织化学技术对结肠腺癌组织中的凋亡蛋白Smac及Survivin进行检测, 使实验组和对照组染色过程最大限度标准化, 结果更可信.

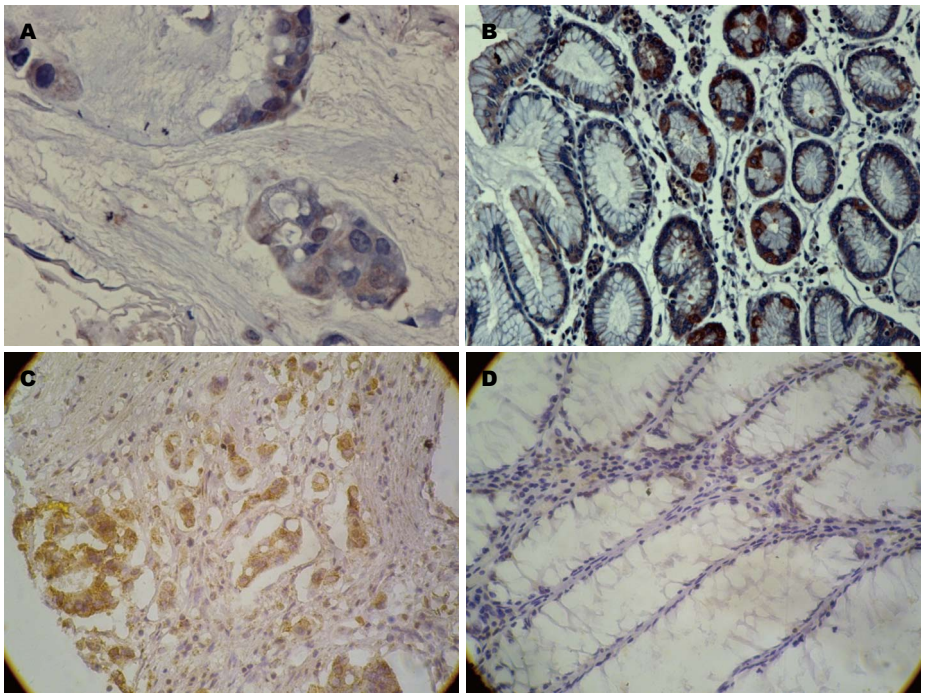


图 1 Survivin和Smac蛋白在结肠腺癌和癌旁正常结肠组织中的表达. A: Smac蛋白在结肠腺癌中阴性表达; B: Smac蛋白在癌旁正常结肠黏膜中呈阳性表达; C: Survivin蛋白在结肠癌中呈阳性表达; D: Survivin蛋白在癌旁正常结肠黏膜中呈阴性表达. Smac: 第二个线粒体来源的半胱氨酸酶的激活剂; Survivin: 生存素.

表 1 Smac、Survivin蛋白在结肠腺癌和癌旁正常结肠黏膜中的表达 *n* (%)

分组	*n*	Smac蛋白			Survivin蛋白		
		阳性	χ^2	*P*值	阳性	χ^2	*P*值
结肠腺癌	59	39(66.10)	4.77	0.03	41(69.49)	6.94	0.01
癌旁	10	10(100)			2(20.0)		

Smac: 第二个线粒体来源的半胱氨酸酶的激活剂; Survivin: 生存素.

其差异有统计学意义.

2 结果

2.1 Smac和Survivin在结肠腺癌和癌旁正常组织中的表达 Smac蛋白在59例结肠腺癌中39例表达, 阳性表达率为66.10%, 在对照组10例中10例表达, 阳性表达率为100%, 差异具有显著性, (χ^2 = 4.77, *P* = 0.03); Survivin蛋白在59例结肠腺癌中41例表达, 阳性表达率为69.49%, 在对照组10例中2例表达, 阳性表达率为20%, 差异有显著性, (χ^2 = 6.94, *P* = 0.01)(表1). 阳性信号主要定位于细胞质, 部分位于细胞核, 呈弥漫分布(图1).

2.2 Smac和Survivin在结肠腺癌中的表达与临床病理参数的关系 Smac蛋白在结肠高分化腺癌、中低分化腺癌中的阳性率分别为80%(28/35), 45.83%(11/24), 呈正相关(*r* = 0.355, *P* = 0.006), 在淋巴结转移组、未转移组中的表达阳性率分别为77.78%(28/36), 47.83%(11/23), 呈负相关(*r* = -0.309, *P* = 0.017); Survivin蛋白在结肠高分化腺癌、中低分化腺癌中的阳性率分别为57.1%(20/35), 87.5%(21/24), 呈负相关(*r* = -0.324, *P* = 0.012), 在淋巴结转移组、未转移组中的表达阳性率分别为86.96%(20/23), 58.33%(21/36), 呈正相关(*r* = 0.303, *P* = 0.020); Smac蛋白和Survivin蛋白在结肠腺癌中的表达率和肿瘤患者的年龄, 肿瘤的大小, 浸润深度, 等均无相关性(*P*>0.05, 表2).

2.3 Smac和Survivin蛋白在结肠腺癌中表达的相关性和意义 结肠腺癌中, Smac蛋白表达阳性的39例中, Survivin蛋白阳性表达23例, 占59%(37/39), 阴性表达16例, 占41%(16/39), Smac蛋白表达阴性的20例中, Survivin蛋白阴性表达2例, 占10%(2/20), 阳性表达18例, 占90%(18/20). 两者表达的相关性采用Spearman等级相关分析, *r* = -0.319, *P* = 0.014, 两者明显负相关(表3).

3 讨论

肿瘤的无限制的增值以及凋亡紊乱是肿瘤发生发展的重要原因, 凋亡促进蛋白的减少或者凋亡抑制蛋白的增多, 均可导致肿瘤细胞凋亡减

■应用要点
研究结果为以下后续研究提供理论依据: (1)通过基因克隆技术在结肠腺癌中高表达Smac蛋白从而降低Survivin蛋白的表达并抑制其活性并观察对肿瘤细胞凋亡的影响; (2)Survivin和Smac蛋白的检测可能成为评估结肠癌患者淋巴结转移风险以及肿瘤恶性程度的一个指标.

表 2 Smac和Survivin在结肠腺癌中的表达与临床病理特征的关系 *n*(%)

分组	*n*	Smac蛋白			Survivin蛋白		
		阳性	χ^2	*P*值	阳性	χ^2	*P*值
年龄(岁)			3.08	0.08		0.58	0.45
>45	24	19(79.17)			18(75)		
≤45	35	20(57.14)			23(65.71)		
肿瘤大小(cm)			0.69	0.41		2.51	0.11
>2	37	23(62.16)			23(62.16)		
≤2	22	16(72.73)			18(81.82)		
肿瘤分化			7.42	0.01		6.19	0.01
高分化	35	28(80.00)			20(57.14)		
中-低分化	24	11(45.83)			21(87.50)		
淋巴转移			5.62	0.02		5.42	0.02
有	23	11(47.83)			20(86.96)		
无	36	28(77.78)			21(58.33)		
浸润深度			1.29	0.26		0.10	0.75
黏膜及黏膜下	18	10(55.56)			12(66.67)		
肌层	41	29(75.73)			29(70.73)		

Smac: 第二个线粒体来源的半胱氨酸酶的激活剂; Survivin: 生存素.

表 3 Smac和Survivin在结肠腺癌中表达的相关性 *n*(%)

Smac蛋白		Survivin蛋白	
表达结果	*n*	+	−
+	39	23(59.0)	16(41.0)
−	20	18(90.0)	2(10.0)
合计	59	41	18

Smac: 第二个线粒体来源的半胱氨酸酶的激活剂; Survivin: 生存素.

少而影响肿瘤的发展.

促凋亡因子Smac是2000年美籍华人王晓东等新发现的一种来源于线粒体的凋亡促进蛋白[3], 通过与凋亡执行蛋白Caspase 3竞争性的结合IAPs[4]如Survivin, 解除IAPs对Caspase 3的抑制作用, 从而促进细胞凋亡, Smac蛋白还可以激活机体对肿瘤细胞的免疫反应促进肿瘤细胞死亡[5]. 研究显示Smac蛋白在很多恶性肿瘤细胞中表达降低或缺失, 如Yoo等[6]报道了多种恶性肿瘤中Smac的表达情况, 不同恶性肿瘤中Smac蛋白阳性表达率不一样. Pluta等[7]通过流式细胞计量技术研究了62例乳腺癌和11例乳腺纤维腺瘤病例, 结果表明Smac蛋白在乳腺癌中表达明显降低, Smac蛋白的低表达和乳腺癌的浸润、血道、淋巴道转移以及乳腺癌的临床分期均明显相关. Dobrzycka等[8]用Western blot技术定量分析了76例经手术切除的肿瘤子宫内膜癌新鲜冰冻组织后发现: Smac蛋白的表达与子宫内膜癌的病理分级呈负相关, Smac蛋白的阴性表达意味着患者预后不良.

Survivin是IAPs家族中最小的成员, 主要通过结合凋亡执行蛋白Caspase 3而抑制细胞凋亡, 据有关文献报道, 在乳腺癌中, Survivin蛋白还可以促进血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)从而诱导肿瘤间质血管生成[9], 并和乳腺癌的发生发展、淋巴结转移等有关. 在很多恶性肿瘤中如膀胱癌中也得到类似的结果[10]. 最近的研究表明, Survivin在细胞核中的表达与膀胱上皮癌患者预后密切相关, 细胞核高表达Survivin意味着预后不良[10]. *Survivin*基因沉默后不仅可以抑制细胞增殖, 还可以明显促进肿瘤细胞凋亡[11,12].

本文研究结果显示: Smac蛋白在结肠腺癌、癌旁正常组织中的表达率分别为66.10%(39/59), 100%(10/10), 在结肠腺癌中表达明显降低, 组间差异有显著性(P = 0.03), 而Survivin蛋白在结肠腺癌、癌旁正常组织中的表达率分别为69.49%(41/59), 20.0%(2/10), 差异有显著性(P = 0.001), 在结肠腺癌中表达明显增高. 在39例Smac蛋白表达阳性的病例中, Survivin蛋白有23例表达阳性, 占59%; 而20例Smac蛋白表达阴性的病例中, Survivin蛋白有18例阳性, 占90%; 两者在结肠腺癌中的表达具有明显负相关(r = -0.319, P = 0.014).

■名词解释

泛素化-蛋白酶途径: 此途径主要介导蛋白的降解. 调控过程的组成成分: 泛素、启动酶系统和蛋白酶体系统; 泛素启动酶系统负责活化泛素, 并将其结合到待降解的蛋白上, 形成靶蛋白多聚泛素链, 即泛素化. 蛋白酶体系统可以识别已泛素化的蛋白并将其降解.

■同行评价
本文设计科学合理, 手段先进, 统计分析可信, 分析讨论客观, 结论可靠科学性好, 对临床研究有一定指导意义.

Smac蛋白在结肠腺癌中表达降低, 势必失去对IAPs蛋白如Survivin的拮抗, 导致其活性增强, 从而增强其对Caspase尤其是Caspase 3的抑制, Caspase 3是细胞凋亡的最终执行蛋白, Survivin可以通过与其结合, 通过抑制其活性而影响结肠腺癌的发展. 对于Smac蛋白与Survivin蛋白的表达呈负相关性, 可能是因为Smac蛋白可以通过某种机制泛素化降解Survivin蛋白[13], 而Smac蛋白的减少使Survivin蛋白通过泛素化降解减少, 从而导致Survivin在结肠癌中的高表达. 而Smac蛋白表达的降低, 又可能是因为IAPs家族某些成员如Livin、X-IAP表达增多, 通过泛素化-蛋白酶途径降解Smac蛋白所致[14].

在研究Smac蛋白和Survivin蛋白在结肠腺癌中的表达与临床病理参数之间的关系中, 我们发现两者的表达与结肠腺癌的分化呈正和负相关, 与淋巴结转移也具有明显相关性, 与有关对结直肠癌中的研究文献结果相似[15], 这个可能和结肠腺癌中Smac蛋白表达减少, 通过前述作用使Survivin表达增高或活性增高有关.

总之, Smac在结肠腺癌中表达降低导致Survivin蛋白表达增高和/或活性增强可能与结肠腺癌的发生、发展以及淋巴结的转移密切相关, 通过基因克隆技术在结肠腺癌中高表达Smac蛋白从而降低Survivin蛋白的表达并抑制其活性可能是治疗肿瘤的一个很好的思路.

4 参考文献

1 Qin S, Yang C, Li S, Xu C, Zhao Y, Ren H. Smac: Its role in apoptosis induction and use in lung cancer diagnosis and treatment. *Cancer Lett* 2012; 318: 9-13 [PMID: 22227574 DOI: 10.1016/j.canlet.2011.12.024]

2 Du C, Fang M, Li Y, Li L, Wang X. Smac, a mitochondrial protein that promotes cytochrome c-dependent caspase activation by eliminating IAP inhibition. *Cell* 2000; 102: 33-42 [PMID: 10929711 DOI: 10.1016/S0092-8674(00)00008-8]

3 李维山, 左曙光, 鄢文海, 宋国华. 细胞色素C和Survivin在结肠腺癌中的表达及临床意义. 实用医学杂志 2012; 28: 226-228

4 De Oliveira Lima F, De Oliveira Costa H, Barrezueta LF, Fujiyama Oshima CT, Silva JA, Gomes TS, Pinheiro N, Neto RA, Franco M. Immunoexpression of inhibitors of apoptosis proteins and their antagonist SMAC/DIABLO in colorectal carcinoma: correlation with apoptotic index, cellular proliferation and prognosis. *Oncol Rep* 2009; 22: 295-303 [PMID: 19578769]

5 Emeagi PU, Van Lint S, Goyvaerts C, Maenhout S, Cauwels A, McNeish IA, Bos T, Heirman C, Thielemans K, Aerts JL, Breckpot K. Proinflammatory characteristics of SMAC/DIABLO-induced cell death in antitumor therapy. *Cancer Res* 2012; 72: 1342-1352 [PMID: 22379024 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-2400]

6 Yoo NJ, Kim HS, Kim SY, Park WS, Park CH, Jeon H, Jung ES, Lee JY, Lee SH. Immunohistochemical analysis of Smac/DIABLO expression in human carcinomas and sarcomas. *APMIS* 2003; 111: 382-388 [PMID: 12752217 DOI: 10.1034/j.1600-0463.2003.t01-1-1110202.x]

7 Pluta P, Cebula-Obrzut B, Ehemann V, Pluta A, Wierzbowska A, Piekarski J, Bilski A, Nejc D, Kordek R, Robak T, Smolewski P, Jeziorski A. Correlation of Smac/DIABLO protein expression with the clinicopathological features of breast cancer patients. *Neoplasma* 2011; 58: 430-435 [PMID: 21744997 DOI: 10.4149/neo_2011_05_430]

8 Dobrzycka B, Terlikowski SJ, Bernaczyk PS, Garbowicz M, Niklinski J, Chyczewski L, Kulikowski M. Prognostic significance of smac/DIABLO in endometrioid endometrial cancer. *Folia Histochem Cytobiol* 2010; 48: 678-681 [PMID: 21478115]

9 Li X, Dang X, Sun X. Expression of survivin and VEGF-C in breast cancer tissue and its relation to lymphatic metastasis. *Eur J Gynaecol Oncol* 2012; 33: 178-182 [PMID: 22611959]

10 Kitamura H, Torigoe T, Hirohashi Y, Asanuma H, Inoue R, Nishida S, Tanaka T, Masumori N, Sato N, Tsukamoto T. Nuclear, but not cytoplasmic, localization of survivin as a negative prognostic factor for survival in upper urinary tract urothelial carcinoma. *Virchows Arch* 2013; 462: 101-107 [PMID: 23179762 DOI: 10.1007/s00428-012-1343-7]

11 Lamers F, van der Ploeg I, Schild L, Ebus ME, Koster J, Hansen BR, Koch T, Versteeg R, Caron HN, Molenaar JJ. Knockdown of survivin (BIRC5) causes apoptosis in neuroblastoma via mitotic catastrophe. *Endocr Relat Cancer* 2011; 18: 657-668 [PMID: 21859926 DOI: 10.1530/ERC-11-0207]

12 Cao YQ, Wang FG, Huo R, Cai JL, Feng YQ, Li Q, Wang YB. [Effect of survivin antisense oligodeoxynucleotide on proliferation and apoptosis of human malignant melanoma cells]. *Zhonghua Shaoshang Zazhi* 2010; 26: 128-132 [PMID: 20723411]

13 McNeish IA, Lopes R, Bell SJ, McKay TR, Fernandez M, Lockley M, Wheatley SP, Lemoine NR. Survivin interacts with Smac/DIABLO in ovarian carcinoma cells but is redundant in Smac-mediated apoptosis. *Exp Cell Res* 2005; 302: 69-82 [PMID: 15541727 DOI: 10.1016/j.yexcr.2004.08.029]

14 Ma L, Huang Y, Song Z, Feng S, Tian X, Du W, Qiu X, Heese K, Wu M. Livin promotes Smac/DIABLO degradation by ubiquitin-proteasome pathway. *Cell Death Differ* 2006; 13: 2079-2088 [PMID: 16729033]

15 Endo K, Kohnoe S, Watanabe A, Tashiro H, Sakata H, Morita M, Kakeji Y, Maehara Y. Clinical significance of Smac/DIABLO expression in colorectal cancer. *Oncol Rep* 2009; 21: 351-355 [PMID: 19148507]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

世界华人消化杂志 2013年6月18日; 21(17): 1681-1684
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

双气囊小肠镜对老年人不明原因消化系出血的诊断价值

金晓维, 朱 鸣, 唐 杰, 毛高平, 宁守斌

金晓维, 朱鸣, 唐杰, 毛高平, 宁守斌, 中国人民解放军空军总医院消化科 北京市 100142
金晓维, 主治医师, 主要从事消化内镜诊断和治疗的研究.
作者贡献分布: 此课题由金晓维与朱鸣设计; 研究过程由金晓维、朱鸣、唐杰、毛高平及宁守斌操作完成; 数据分析由金晓维与朱鸣完成; 论文写作由金晓维完成.
通讯作者: 朱鸣, 副主任医师, 100142, 北京市海淀区阜成路30号, 中国人民解放军空军总医院消化内科.
zhuming20121226@sina.cn
收稿日期: 2013-04-07 修回日期: 2013-04-24
接受日期: 2013-05-12 在线出版日期: 2013-06-18

Diagnostic value of double balloon endoscopy in obscure gastrointestinal bleeding in elderly patients

Xiao-Wei Jin, Ming Zhu, Jie Tang, Gao-Ping Mao, Shou-Bin Ning

Xiao-Wei Jin, Ming Zhu, Jie Tang, Gao-Ping Mao, Shou-Bin Ning, Department of Gastroenterology, Air Force General Hospital, Beijing 100142, China
Correspondence to: Zhu Ming, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Air Force General Hospital, 30 Fucheng Road, Haidian District, Beijing 100142, China. zhuming20121226@sina.cn
Received: 2013-04-07 Revised: 2013-04-24
Accepted: 2013-05-12 Published online: 2013-06-18

Abstract

AIM: To investigate the diagnostic value of double balloon endoscopy (DBE) in obscure gastrointestinal bleeding (OGIB) in elderly patients.

METHODS: Clinical data for 48 elderly patients with OGIB who underwent DBE from January 2007 to March 2012 were retrospectively reviewed. Meanwhile, 106 cases of young patients were analyzed. The causes of gastrointestinal bleeding were observed by DBE.

RESULTS: The detection rate of gastrointestinal bleeding by DBE was 87.5% (42/48), and the causes of gastrointestinal bleeding were diagnosed in 83.33% (40/48) of cases. Common causes of OGIB in elderly people included small intestinal ulcer, vascular dilatation, small intestinal carcinoma, interstitialoma, mucosal inflammatory changes, small intestinal diverticulum, Crohn's disease, polyps, and melanoma metastasis to small bowel. No significant difference was found in types of diseases between elderly and young patients ($P > 0.05$).

CONCLUSION: DBE has high diagnostic value in the detection of OGIB in elderly patients. Common reasons for OGIB include small intestinal ulcer, vascular dilatation, small intestinal carcinoma and interstitialoma. There is no significant difference in types of diseases between elderly and young patients.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Double balloon endoscopy; Obscure gastrointestinal bleeding; Elderly patients; Diagnosis

Jin XW, Zhu M, Tang J, Mao GP, Ning SB. Diagnostic value of double balloon endoscopy in obscure gastrointestinal bleeding in elderly patients. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(17): 1681-1684 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1681.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i17.1681

摘要

目的: 探讨双气囊电子小肠镜(double balloon endoscopy, DBE)对老年人不明原因消化系出血(obscure gastrointestinal bleeding, OGIB)的诊断价值.

方法: 回顾性分析2007-01/2012-03因OGIB在我院进行DBE检查的48例老年患者, 同时对照分析同期检查的106例非老年患者. DBE下观察引起消化系出血的病因.

结果: 老年人OGIB检出阳性率为87.5%(42/48), 病因诊断率83.33%(40/48). 老年人OGBI最常见的原因依次为: 小肠溃疡、血管扩张症、小肠癌、小肠间质瘤、小肠黏膜炎性改变、小肠憩室、克罗恩病、小肠息肉、小肠转移性黑色素瘤, 与非老年组比较无统计学差异.

结论: DBE对老年人OGIB有较高的诊断价值, 老年人OGBI最常见的原因为: 小肠溃疡、小肠血管扩张症、小肠癌、小肠间质瘤, 与非老

■背景资料
不明原因消化系出血(obscure gastrointestinal bleeding, OGIB)是指通过消化内镜(胃镜、结肠镜)和小肠造影等检查提示阴性, 但仍存在不明来源的消化系出血, 部位多位于小肠. 双气囊电子小肠镜(double balloon endoscopy, DBE)是安全、有效的OGIB的诊断方法. 本文总结了老年人OGIB的双气囊小肠镜检查资料.

■同行评议者
何松, 教授, 重庆医科大学附属第二医院消化内科; 姜相君, 主任医师, 青岛市市立医院消化科

■研发前沿
DBE除了能全肠段检查外, 还能行活检和镜下治疗. 我国一些针对老年人OGIB的研究中以胶囊内镜为主, 但胶囊内镜有其局限性, 且不能行活检和镜下治疗. 本文以DBE为检查方法, 总结48例老年人的检查资料.

年组比较无统计学差异.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 双气囊电子小肠镜; 不明原因消化道出血; 老年人; 诊断

核心提示: 双气囊电子小肠镜(double balloon endoscopy)对老年人不明原因消化系出血(obscure gastrointestinal bleeding, OGIB)有较高的诊断价值, 并可行镜下治疗, 是一种安全有效的诊疗措施. 老年人OGBI最常见的原因为: 小肠溃疡、小肠血管扩张症、小肠癌、小肠间质瘤, 与非老年组比较无统计学差异.

金晓维, 朱鸣, 唐杰, 毛高平, 宁守斌. 双气囊小肠镜对老年人不明原因消化系出血的诊断价值. 世界华人消化杂志 2013; 21(17): 1681-1684 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1681.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i17.1681

0 引言

不明原因消化系出血(obscure gastrointestinal bleeding, OGIB)是指通过消化内镜(包括胃镜、结肠镜)和常规小肠造影等检查提示阴性, 但仍存在不明来源的持续或反复发作的消化系出血[1]. 双气囊电子小肠镜(double balloon endoscopy, DBE)是日本学者Yamamoto等[2]和富士写真光机株式会社共同发明. DBE除了能全肠段检查外, 还能进行活检和镜下治疗, 近年来在国内外逐步应用推广[3]. 本文总结了48例在我院接受DBE检查的老年OGIB患者的资料, 进一步探讨DBE对老年人OGIB的诊断价值.

1 材料和方法

1.1 材料 2007-01/2012-03因OGIB在我院进行相关检查的48例患者(≥60岁), 其中男32例, 女16例; 年龄为68.08岁±5.61岁. 显性出血42例(87.5%), 包括主诉黑便者20例(41.67%), 主诉便血者22例(45.83%); 隐性出血6例(12.5%). FUJINONEN 450P5/28型DBE.

1.2 方法

1.2.1 术前准备: 患者术前均常规检查血常规、凝血功能、肝肾功能、心电图等, 无胃肠镜检查及静脉麻醉的禁忌症. 患者术前1 d进食流质饮食, 晚餐后禁食, 并口服蓖麻油40 mL, 饮水500 mL, 第2天上午服复方聚乙二醇电解质散剂137 g加入2000 mL水中清洁肠道, 检查结束前不能进食. 行DEB检查患者均给予丙泊酚静脉麻醉辅助内镜检查. 检查前10 min肌肉注射山莨菪碱10 mg, 并全程行心电监护及氧饱和度监测.

1.2.2 DBE检查: 采用FUJINONEN 450P5/28型DBE. 整套内镜操作系统由内镜、主机、外套管和气泵4部分组成. 小肠镜镜身长2 m, 外径8.5 mm, 视角120度. 外套管长1.4 m. 气囊压力5.6-8.2 kPa. 工作钳道2.2 mm, 通过工作钳道可完成注气、注水、吸引和活检、注射等操作. 估计病变在中上段小肠者选择经口腔途径进镜, 怀疑在中下段小肠病变者选择经肛门途径进镜. 通过镜身和外套管依次反复充气、放气、钩拉、滑行等动作, 将肠管不断地套在DBE镜身上, 直至到达病灶. 这样, 利用有效长度仅2 m的内镜和柔软的外套管交替插入来完成对5-7 m长的小肠的诊疗. 2个气囊注气及抽气均由气泵自动控制, 抽气时压力为-6.0--6.5 kPa; 注气时压力为7.0-7.5 kPa. 经一端进镜未发现病变者, 内镜抵达相应部位后, 以注射针黏膜下注射美蓝多点标记, 继续另一侧进镜检查.

1.2.3 耐受性与安全性: 患者均能耐受检查, 无不良反应及并发症, 也未发生麻醉意外. 少数患者在术后出现腹痛、腹胀症状, 无需特殊处理均可自行缓解, 未出现出血、穿孔、麻痹性肠梗阻、胰腺炎等严重并发症.

统计学处理 检查结果采用检出阳性率(检出阳性率 = 检出病变例数/检查例数×100%)及病因诊断率(病因诊断率 = 检出病变能解释出血原因例数/检出例数×100%)进行评价. 采用χ^2检验比较老年组与非老年组的检出阳性率及病因诊断率, 并比较老年组与非老年组的各种类疾病的构成比, $P<0.05$为有显著性差异.

2 结果

48例老年人OGIB检出阳性率为87.5%(42/48), 病因诊断率83.33%(40/48). 老年人OGBI最常见的原因依次为: 小肠溃疡、血管扩张症、小肠癌、小肠间质瘤、小肠黏膜炎性改变、小肠憩室、克罗恩病、小肠息肉、小肠转移性黑色素瘤. 同期检查的非老年组(106例)检出阳性率87.73%(93/106), 病因诊断率75.47%(80/106), 非老年组OGBI最常见的原因依次为: 小肠溃疡、小肠间质瘤、克罗恩病、血管扩张症、小肠黏膜炎性改变、小肠憩室、小肠癌、小肠息肉、小肠转移性黑色素瘤、门脉高压性肠病. 其中小肠息肉予以镜下切除, 小肠血管扩张予以镜下APC治疗或钛夹止血, 占位性病变及隆起炎性

■相关报道
在我国的一些针对老年人OGIB的研究中以胶囊内镜检查为主, 检出的常见出血原因与本研究相似, 为血管扩张症、小肠占位病变、小肠糜烂或溃疡.

表 1 老年组及非老年组不明原因消化系出血诊断的例数及构成比

疾病种类	老年组		非老年组	
	n	构成比(%)	*n*	构成比(%)
小肠溃疡	11	22.92	18	16.98
血管扩张症	6	12.5	12	11.32
小肠癌	5	10.42	5	4.72
小肠间质瘤	5	10.42	17	16.04
小肠黏膜炎性改变	5	10.42	12	11.32
小肠憩室	3	6.25	11	10.38
克罗恩病	3	6.25	14	13.21
小肠息肉	1	2.08	2	1.89
小肠转移性黑色素瘤	1	2.08	1	0.94
门脉高压性肠病	0	0	1	0.94
未见异常	6	12.5	13	12.26
总计	48	100	106	100

病变予以活检(表1).

统计结果表明, 老年组与同期检查的非老年组比较, 检出阳性率与病因诊断率无统计学差异(P>0.05). 老年组与非老年组各种类疾病的构成比均无统计学差异(P>0.05).

3 讨论

小肠是消化系最长的器官, 全长5-7 m, 位于人体深处, 由于其解剖结构比较特殊, 因此, 是消化系疾病诊治的难点. OGIB的出血部位多位于小肠, 使用传统检查技术受到很大限制.

DBE经口腔进镜一般能顺利到达回肠中上段, 经肛门进镜能到达空肠中上段, 通过两侧对接能对小肠无盲区直视检查, 并且图像清晰, 操作精确, 对OGIB是安全、有效的诊断方法[4], 对OGIB的病因诊断具有重要临床价值[5]. 发现病变还可以取活检、做标记, 并且可以通过其活检孔道送入内镜下治疗的配件, 如圈套器、注射针等, 进行息肉切除和止血等治疗, 是一种可靠的诊治手段.

其他针对OGIB的检查技术, 如: 全消化系钡剂的敏感性及特异性不高, 诊断率仅5.6%-21.0%[6]. 且活动性出血后不宜过早进行钡剂造影. 核素扫描对急性活动性出血的诊断可达76%, 可探测0.05-0.12 mL/min的出血病灶, 但对间隙性出血极易漏诊, 且对微量出血的早期诊断往往很困难[7]. 数字减影血管造影技术(digital subtract angiography, DSA)对消化系活动性出血的诊断率可达89%[8], 但出血速度至少要达到0.5-1.0 mL/min(750-1500 mL/d)才能显示出血部位, 但对黏膜和炎症性病变无诊断价值. 胶囊内镜可以观察全小肠, 在OGIB患者中的诊断率达58%-80%[9-11], 是一种无痛苦的小肠检查法, 但对出血量比较大或伴有肠梗阻者CE并不适宜, 而且, 在体内不能定位、定向, 不能做活检, 不能做治疗, 不能保证被排出体外而且图像不够清晰, 限制了他的临床应用. 另外, OGIB可以手术探查, 并做术中内镜(intra operative enteroscopy, IOE)有入路多、操作方便、盲区少, 光线能透过肠壁发现肠壁上的病变, 对于黏膜出血, 尤其是血管病变出血的发现更有价值. 但是, 手术对机体的损伤及高风险不可避免[12,13].

我们的结果表明, DBE对老年人OGIB有较高的检出阳性率(87.5%)及较高的病因诊断率(83.33%), 与非老年人组无统计学差异. 老年人OGBI最常见的原因前3位为: 小肠溃疡、血管扩张症、小肠癌, 同期检查的非老年组OGBI最常见的原因前3位为: 小肠溃疡、小肠间质瘤、克罗恩病. 可能因为检查例数有限, 老年组与非老年组各种类疾病的构成比无统计学差异.

在我国的一些针对老年人OGIB的研究中以胶囊内镜检查为主, 检出的常见出血原因与本研究相似, 为血管扩张症、小肠占位病变、小肠糜烂或溃疡[14-17].

在我们的研究中小肠溃疡为老年人OGIB的最主要原因, 经详细询问病史, 许多老年人长期患冠心病、高血压、脑梗塞等疾病, 有些人行体内支架植入术, 需长期服用抗凝药物, 有小肠溃疡的11例中7例有长期服用阿司匹林、氯吡格雷或华法林等抗凝药物的病史. 如患者不能停用上述药物, 可同时服用抑酸药及黏膜保护剂, 预防消化系出血的发生.

小肠占位病变也是老年人OGIB的常见原因, 本研究中主要是小肠癌及小肠间质瘤, 这与肿瘤随年龄增高而呈现高发病率有关. 所以, 发现老年人OGIB应高度警惕肿瘤的发生, 及时行小肠镜检查可尽早获得病理学诊断, 并赢得手术治疗的时机.

血管扩张症是胃肠道最常见的血管异常病变, 指正常黏膜和黏膜下畸形静脉以及毛细血管所发生的扩张性病变, 表现为管壁变薄, 血管扩张. 发病年龄以20-30岁和60-70岁两个年龄组为发病高峰. 发病原因可以是先天性血管发育异常、胃肠黏膜慢性缺血或后天获得性退行性变. 而老年人常有慢性心肺功能不全、主动脉瓣狭窄和慢性肾衰, 可导致胃肠黏膜慢性缺血

■创新盘点

本文总结老年人OGIB的DBE检查资料, 而我国一些针对老年人OGIB的研究中以胶囊内镜检查为主.

■应用要点

DBE对老年人OGIB有较高的诊断价值, 并可行镜下治疗. 我们的研究结果显示老年人OGBI最常见的原因为小肠溃疡、血管扩张症、小肠癌. 有小肠溃疡的患者中大多有长期服用阿司匹林、氯吡格雷或华法林等药物的病史.

■同行评价
本文临床资料真实可靠，分析有据，讨论充分，对临床上老年OGIB的诊断治疗有很大的参考价值.

引起血管扩张症[18]. 在本研究中, 针对血管扩张症, 小肠镜不仅是一种诊断方法, 而且可在镜下APC治疗或以钛夹止血, 也是首选的治疗措施.

总之, DBE对老年人OGIB有较高的诊断价值, 并可行镜下治疗, 是一种临床实用性强的诊断治疗措施. 我们的研究结果显示老年人OGBI最常见的原因为小肠溃疡、血管扩张症、小肠癌.

4 参考文献

1 Raju GS, Gerson L, Das A, Lewis B. American Gastroenterological Association (AGA) Institute medical position statement on obscure gastrointestinal bleeding. *Gastroenterology* 2007; 133: 1694-1696 [PMID: 17983811 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.06.008]
2 Yamamoto H, Sekine Y, Sato Y, Higashizawa T, Miyata T, Iino S, Ido K, Sugano K. Total enteroscopy with a nonsurgical steerable double-balloon method. *Gastrointest Endosc* 2001; 53: 216-220 [PMID: 11174299 DOI: 10.1067/mge.2001.112181]
3 Yamamoto H, Sugano K. A new method of enteroscopy--the double-balloon method. *Can J Gastroenterol* 2003; 17: 273-274 [PMID: 12704472]
4 赵亮, 丁一娟, 于红刚, 邓涛, 刘军, 罗和生. 双气囊小肠镜诊断不明原因消化道出血的临床研究. 胃肠病学 2012; 17: 605-608
5 陈白莉, 张芳宾, 何瑶, 聂玉强, 高翔, 曾志荣. 双气囊小肠镜对不明原因消化道出血病因诊断价值的临床研究. 中山大学学报 2009; 8: 186-189
6 Zuckerman GR, Prakash C, Askin MP, Lewis BS. AGA technical review on the evaluation and management of occult and obscure gastrointestinal bleeding. *Gastroenterology* 2000; 118: 201-221 [PMID: 10611170]
7 李德胜, 杨玉莲, 柯多妹. 核素显像对不明原因消化道出血的诊断. 海南医学院学报 2002; 8: 101-102
8 李玉伟, 张富强, 李云辉, 袁亮, 斯光宴. 不明原因消化道出血的DSA诊断与介入治疗. 现代诊断与治疗 2009; 20: 13-15
9 Neu B, Ell C, May A, Schmid E, Riemann JF, Hagenmüller F, Keuchel M, Soehendra N, Seitz U, Meining A, Rösch T. Capsule endoscopy versus standard tests in influencing management of obscure digestive bleeding: results from a German multicenter trial. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 1736-1742 [PMID: 16086709 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2005.41649.x]
10 Hadithi M, Heine GD, Jacobs MA, van Bodegraven AA, Mulder CJ. A prospective study comparing video capsule endoscopy with double-balloon enteroscopy in patients with obscure gastrointestinal bleeding. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 52-57 [PMID: 16405533 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2005.00346.x]
11 Sturniolo GC, Di Leo V, Vettorato MG, De Boni M, Lamboglia F, De Bona M, Bellumat A, Martines D, D'Inca R. Small bowel exploration by wireless capsule endoscopy: results from 314 procedures. *Am J Med* 2006; 119: 341-347 [PMID: 16564777 DOI: 10.1016/j.amjmed.2005.08.029]
12 夏兴洲, 杨蒽茹, 闫国亭. 不明原因消化道出血术中内镜检查26例分析. 中国误诊学杂志 2006; 6: 1771-1772
13 宋志强, 丁士刚. 双气囊小肠镜在不明原因消化道出血中的诊断价值. 中国微创外科杂志 2009; 1: 76-78
14 肖卫东, 杨桦, 罗云生, 马小干, 王立明, 程应东, 张朝军, 王雷. 胶囊内镜初筛联合术中内镜诊断老年不明原因消化道出血. 中华消化外科杂志 2008; 7: 314-315
15 卫炜, GE Zhi-zheng, 高云杰, HU Yun-biao, 萧树东. 胶囊内镜在老年人不明原因消化道出血中的应用价值. 中华老年医学杂志 2008; 27: 582-584
16 张冰凌, 陈春晓, 厉有名. 不同年龄层的不明原因消化道出血患者胶囊内镜诊断结果分析. 中华消化杂志 2009; 29: 415-417
17 王赫, 王丽波. 胶囊内镜在老年人中消化道出血中的应用. 中国老年医学杂志 2011; 31: 4968-4969
18 赵洪川. 胃肠道血管畸形. 中华内科杂志 2012; 51: 250-251

编辑 田滢 电编 鲁亚静

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费. 审稿周期及发表周期不变. (《世界华人消化杂志》编辑部)

世界华人消化杂志 2013年6月18日; 21(17): Ⅰ-Ⅴ
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《世界华人消化杂志》投稿须知

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊.

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569)》是一份同行评议和开放获取期刊(Open Access Journal, OAJ), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版. 《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区.

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病学, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章. 最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病学实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平.

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group, BPG)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上. OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊. 论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本. BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑.目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平.

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录. 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号. 《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊.

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

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals). 见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47.

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称. 医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文. 公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录.

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等. 为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上. 中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤). 通常应小写.

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

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量. 如 30 kD改为M_r 30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即A_r(A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体). 计量单位在+、－及-后列出. 在±前后均要列出, 如37.6 ℃±1.2 ℃, 45.6岁±24岁, 56.4 d±0.5 d. 3.56±0.27 pg/ml应为3.56 ng/L±0.27 ng/L. BP用kPa(mmHg), RBC数用1×10^{12}/L, WBC数用1×10^{9}/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. M_r明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm×6 cm×4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO_2结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1×10^{-3} g与5×10^{-7} g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg•d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO_2, 50 mL/L CO_2; 1∶1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45×10^{-6}; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示.

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ^2; (4)样本的

相关系数用英文小写r; (5)自由度用希文小写υ; (6)样本数用英文小写n; (7)概率用英文斜体大写P. 在统计学处理中在文字叙述时平均数±标准差表示为mean±SD, 平均数±标准误为mean±SE. 统计学显著性用$^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套P值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第三套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L±0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6 347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的mean±SD应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g±420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg±0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm±0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48→23.5→24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母≤100, 百分数到个位; 101≤分母≤1 000, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名，按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wcjd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版.

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致.

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号. 格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”.

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码. 例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致.

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象. 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度. 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征. 如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准. 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写*P*, 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值).

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 正文内序号连排用(1), (2), (3). 以下逐条陈述.

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系.

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可.

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论.

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾.

图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …. 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: $^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第3套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$. *P*值后注明何种检验及其具体数字, 如$P<0.01$, $t = 4.56$ *vs* 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用*t*/min, *c*/(mol/L), *p*/kPa, *V*/mL, *t*/℃表达.

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上

角注码号. 如马连生[1]报告……, 潘伯荣等[2-5]认为……; PCR方法敏感性高[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部),书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp

4.2 研究原著写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp

4.3 焦点论坛写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp

4.4 文献综述写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp

4.5 研究快报写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp

4.6 临床经验写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcjy.asp

4.7 病例报告写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx. 无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投稿须知下载网址http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf. 审稿过程平均时间需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审.

6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删节时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有.

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

http: //www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进.

世界华人消化杂志 2013年6月18日; 21(17): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26
美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会
会议地点: 美国旧金山
联系方式: www.gicasym.org

2013-02-10/15
2013年肠道微生物组: 免疫网络效应/法规Keystone Symposia会议
会议地点: 美国
联系方式: info@keystonesymposia.org

2013-02-09/12
美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周(CNW 2013)
会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城
联系方式: http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508

2013-02-22/23
国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会
会议地点: 美国休斯顿
联系方式: http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1]

2013-02-22/23
迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议
会议地点: 美国
联系方式: cme.med.miami.edu/x88.xml

2013-03-01/31
2013年北京第七届疝和腹壁外科国际学术研讨会
会议地点: 北京市
联系方式: zhshfbwkzz@yahoo.com.cn

2013-03-01/04
2013加拿大消化疾病周(CDDW)
会议地点: 加拿大
联系方式: www.cag-acg.org/cddw

2013-03-07/10
亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议
会议地点: 新加坡
联系方式: www.apaslconference.org

2013-03-15/17
2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛
会议地点: 深圳市
联系方式: ewancool@hotmail.com

2013-03-14/16
中部外科学会(CSA)2013年会
会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛
联系方式: http://www.centralsurg.org/meeting/futuremtgs.html

2013-04-12/14
2013中国肛肠创新论坛(CICS)
会议地点: 北京市
联系方式: www.crdinnovation.com

2013-04-19/23
2013第2届国际肿瘤学论坛
会议地点: 瑞士
联系方式: cihexpo@163.com

2013-05-23/25
2013第六届世界癌症大会
会议地点: 西安市
联系方式: bithuiyi@163.com

2013-05-20/22
2013年第三届内分泌与代谢大会
会议地点: 西安市
联系方式: nancy@bitconferences.cn

2013-05-31/06-04
2013美国临床肿瘤协会年会
会议地点: 美国芝加哥
联系方式: yangxinxue999@163.com

2013-06-07/09
中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤营养与支持治疗学术会议
会议地点: 武汉市
联系方式: csonsc@VIP.163.com

2013-06-21/23
中国消化科学术论坛
会议地点: 张家界市
联系方式: casgmail@126.com

2013-07-13/14
中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会
会议地点: 银川市
联系方式: lilyjia@163.com

2014-09-26/30
第39届欧洲临床肿瘤学会年会
会议地点: 西班牙
联系方式: http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html

2013-10-18/20
第二十二届亚太抗癌大会
会议地点: 天津市
联系方式: secretariat@apcc2013.com

世界华人消化杂志 2013年6月18日; 21(17): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

傅春彬 主任医师
吉化集团公司总医院一院消化内科

顾国利 副主任医师
中国人民解放军空军总医院普通外科

官泳松 教授
四川大学华西医院放射科

韩天权 教授
上海交通大学医学院附属瑞金医院外科, 上海消化外科研究所

何继满 教授
南方医科大学南方医院消化研究所

何敏 教授
广西医科大学医学科学实验中心

洪天配 教授
北京大学第三医院内分泌科

黄缘 教授
南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室

蒋敬庭 教授
常州市第一人民医院(苏州大学附属第三医院)肿瘤生物诊疗中心

李国威 教授
西安交通大学医学院第二附属医院普通外科

李正荣 副教授
南昌大学附属第一医院胃肠外科(普六病区)

刘海林 主任医师
上海交通大学医学院附属第九人民医院消化科

卢晓梅 教授
新疆医科大学第一附属医院临床医学研究院

禄韶英 副教授
西安交通大学医学院第一附属医院普外科

缪应雷 主任医师
昆明医科大学第一附属医院消化内科

秦建民 主任医师
上海中医药大学附属普陀医院普外科

王承党 教授
福建医科大学附属第一医院消化内科

王富春 教授
长春中医药大学

王刚 副研究员
哈尔滨医科大学附属第一医院胰胆外科(普外二科)

王蔚虹 教授
北京大学第一医院消化内科

王娅兰 教授
重庆医科大学基础医学院病理教研室

肖秀英 副主任医师
上海市徐汇区中心医院肿瘤科

徐健 副主任医师
深圳市慢性病防治中心

禹正杨 副教授
南华大学附属第一医院

张俊 副研究员
海交通大学医学院附属瑞金医院普外科

张力为 副教授
新疆医科大学第一附属医院胸外科

赵刚 副教授
协和医院胰腺病研究所

周国雄 主任医师
南通大学附属医院消化内科

周南进 研究员
江西省医学科学研究所

邹小明 教授
哈尔滨医科大学附属第二医院普外二科

世界华人消化杂志
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《**世界华人消化杂志**》入编《中文核心期刊要目总览》2011 年版（即第六版）之 **临床医学/特种医学类** 的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了 73 个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN 号、CN 号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被索量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web 下载量等 9 个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到 60 余种，统计到的文献数量共计 221177 余万篇次，涉及期刊 14400 余种。参加核心期刊评审的学科专家达 8200 多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出 1982 种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂

撰安

《中文核心期刊要目总览》2011 年版编委会

代章：

2012 年 1 月





百世登

Baishideng®

Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,
315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com



 © 2013 Baishideng. All rights reserved.

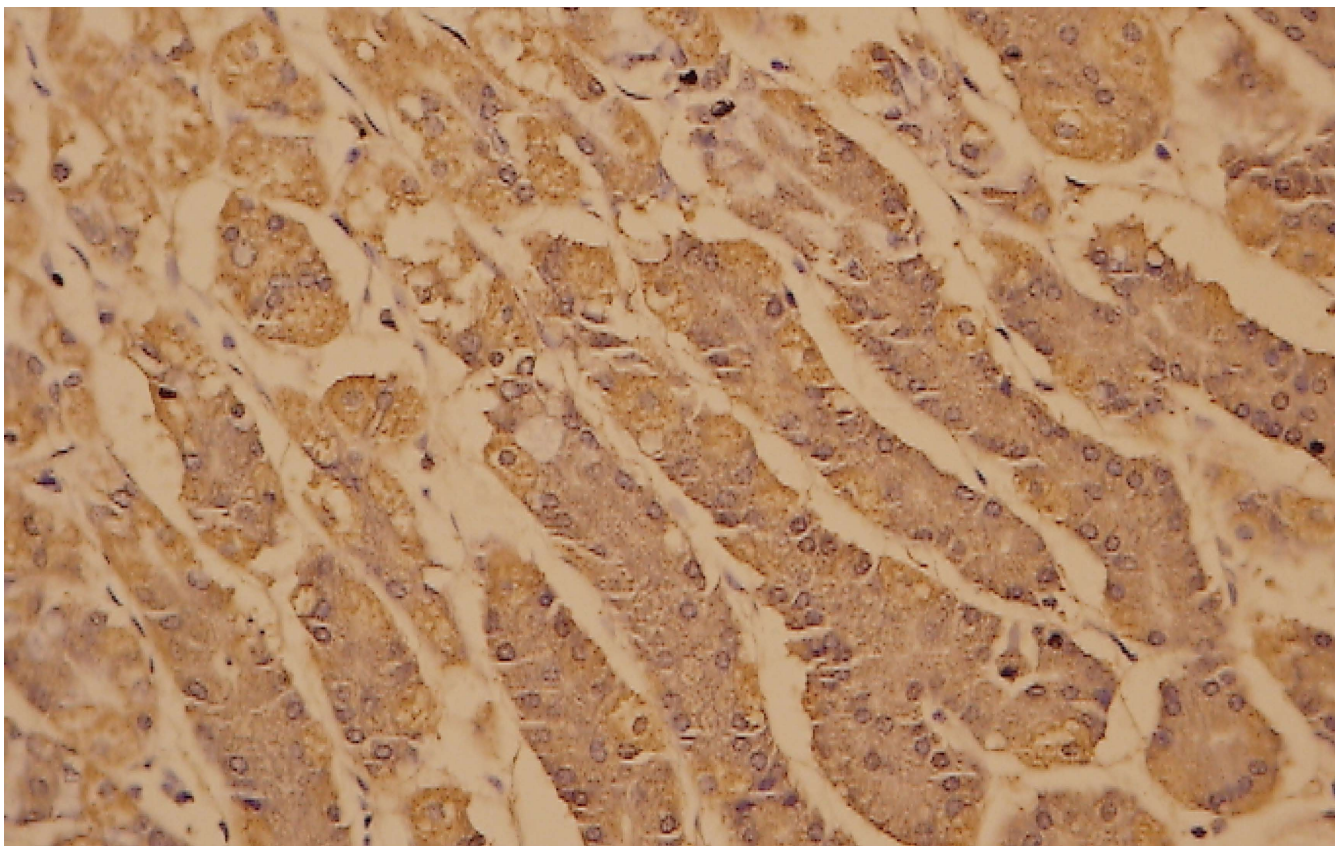
ISSN 1009-3079 (print)
ISSN 2219-2859 (online)

世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2013 年 6 月 28 日　第 21 卷　第 18 期　(Volume 21 Number 18)



18/2013

ISSN 1009-3079
18>
9 771009 307056

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

世界华人消化杂志
www.wjgnet.com
二零一三年六月二十八日
第二十一卷
第十八期

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31
wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

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

总顾问

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

名誉主编

潘伯荣教授

主编

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

编委

消化内科学

白爱平副教授
白岚教授
卜平教授
陈国忠主任医师
陈洪副教授
陈其奎教授
陈卫昌教授
陈贻胜教授
程斌教授
迟宝荣教授
崔立红教授
邓鑫教授
丁士刚教授
董蕾教授
杜雅菊主任医师
杜奕奇副教授
樊冬梅副主任医师
樊晓明教授
房静远教授
冯志杰主任医师
傅春彬主任医师
甘华田教授
高凌副教授
戈之铮教授
关玉盘教授
关晓辉主任医师
郭晓钟教授
郝建宇教授
郝丽萍副教授
何继满教授
何松教授
洪天配教授
黄培林教授
黄晓东主任医师
黄颖秋教授
黄缘教授
季国忠教授
江米足教授
姜春萌教授
姜慧卿教授
姜相君主任医师
金瑞教授
蓝宇教授
李淑德教授
李瑜元教授
李玉民教授
廖家智副主任医师
林志辉教授
刘冰熔教授
刘凤斌教授
刘改芳主任医师
刘海峰主任医师
刘海林主任医师
刘亮明副教授
陆伦根教授
马红主任医师
马欣主任医师
毛恩强教授
毛高平教授
孟庆华教授
缪应雷主任医师
倪润洲教授
欧希龙副教授
潘秀珍教授
潘阳林副教授
朴云峰教授
秦成勇教授
任粉玉教授
任建林教授
邵先玉教授
沈琳主任医师
沈薇教授
施瑞华教授
宋军副教授
唐世刚教授
田宇彬教授
度必光教授
宛新建副教授
王邦茂教授
王炳元教授
王承党教授
王江滨教授
王俊平教授
王蔚虹教授
王晓艳副教授
夏冰教授
夏时海副教授
徐灿霞教授
徐可树教授
杨建民教授
张国主任医师
姚树坤教授
张国梁主任医师
张军教授
张庆瑜教授
张小晋主任医师
张筱茵副教授
张志坚教授
郑培永教授
郑鹏远教授
郑素军副主任医师
郑勇教授
周国雄主任医师
周宇教授
邹晓平主任医师
诸琦教授
于珮主任医师

消化外科学

白雪副主任医师
白雪巍副主任医师
白玉作教授
蔡开琳副教授
蔡三军主任医师
曹杰主任医师
陈炳官教授
陈光教授
陈海龙教授
陈积圣教授
陈进宏副主任医师
陈凛教授
陈汝福教授
陈亚军主任医师
陈钟教授
程爱国教授
程树群副教授
崔云甫教授
戴朝六教授
戴冬秋教授
丁义涛教授
杜顺达副教授
房林教授
傅红副教授
傅华群教授
傅思源副教授
傅晓辉副教授
傅志仁主任医师
高毅主任医师
葛海燕教授
巩鹏副教授
谷俊朝主任医师
顾国利副主任医师
顾岩教授
韩天权教授
郝纯毅主任医师
郝立强副教授
何超教授
何向辉教授
何晓顺教授
何裕隆教授
胡安斌副教授
黄志勇教授
季加孚教授
荚卫东教授
姜波健教授
金山主任医师
康春博副主任医师
孔静副教授
黎乐群教授
李革副教授
李国威教授
李华副教授
李华山主任医师
李升平教授
李胜研究员
李涛副主任医师
李文岗教授
李小荣教授
李旭副教授
李永翔教授
李正荣副教授
李志霞教授
李宗芳教授
梁力建教授
刘宝林教授
刘超教授
刘宏鸣副教授
刘建教授
刘亮副主任医师
刘颖斌主任医师
卢军华教授
陆云飞教授
禄韶英副教授
吕凌副教授
吕云福教授
麻勇副研究员
齐清会教授
秦春宏副主任医师
秦华东教授
秦环龙教授
秦建民主任医师
邱伟华主任医师
仇毓东教授
崔清波副教授
单云峰副主任医师
沈柏用副教授
施宝民教授
施诚仁教授
施晓雷副主任医师
石毓君副研究员
宋新明教授
宋振顺教授
孙诚谊教授
孙文兵教授
孙星副教授
孙学英教授
邰升副教授
谭晓冬教授
汤朝晖副主任医师
汤绍涛教授
唐南洪教授

世界华人消化杂志®

编辑委员会

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

消化感染病学

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

消化中医药学

陈治水主任医师
杜群副研究员
扈晓宇主任医师
黄恒青主任医师
李军祥教授
李康副教授
李晓波教授
李勇副教授
李振华教授
刘成海研究员
刘绍能主任医师
鲁玉辉副教授
南极星教授
牛英才研究员
谭周进教授
王富春教授
王来友副教授
王笑民主任医师
邢建峰副教授
徐列明教授
许玲教授
徐庆教授
袁红霞研究员
张声生教授

消化肿瘤学

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

消化影像学

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

消化内镜及介入治疗学

郝俊鸣副主任医师
李家平教授
刘杰民副主任医师
茅爱武教授
孙明军教授
万军教授
吴沛宏教授
余日胜主任医师
袁友红副教授
张火俊副教授

消化中西医结合学

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

消化基础研究

曹洁副教授
曹鹏副研究员
陈敬贤教授
陈志龙教授
崔莲花副教授
段义农教授
樊红教授
高国全教授
高英堂研究员
管冬元副教授
郭长江研究员
郭俊明教授
何红伟副研究员
何敏教授
黄昆教授
黄文林教授
黄园教授
洪艳教授
李刚教授
李君文研究员
李孟森教授
李文贵副教授
李焱副研究员
李增山副教授
刘长征副教授
刘克辛教授
刘森副教授
宁钧宇副研究员
彭宗根副研究员
任超世研究员
任浩副教授
任晓峰副教授
邵华副主任药师
沈东炎副教授
沈涛副教授
斯坎德尔·白克力教授
台桂香教授
谭学瑞教授
汤静主管药师
滕旭副教授
田文静副教授
汪思应教授
王钦红教授
王书奎教授
魏继福研究员
文彬研究员
吴道澄教授
吴江锋副教授
吴军研究员
吴俊华副教授
吴志强副教授
夏敏教授
徐健副主任医师
徐宁志研究员
许文燮教授
杨晓明教授
阴赪宏研究员
郁卫东副研究员
喻荣彬教授
曾柱教授
张红教授
张淑坤副研究员
赵平教授
赵铁建教授
周南进研究员
周素芳教授
周晓武副主任医师
朱益民教授
竺亚斌研究员

消化病理学

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

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目　次 ●　2013 年 6 月 28 日　第 21 卷　第 18 期　(总第422期)

基础研究

1685 miR-130b在食管鳞癌中的表达及对食管鳞癌细胞增殖和迁移的影响
郁婷婷, 李硕, 傅敏根, 曹日昇, 朱宏, 施瑞华

1693 miR495、miR551a靶向干扰PRL-3表达抑制胃癌腹膜转移
许牧, 曹毅, 蒋蒙蒙, 揭志刚, 李正荣

临床研究

1701 抑癌基因*WWOX*与*p53*在胃癌组织中的表达及相互关系
李小华, 何利平, 罗忠金

文献综述

1708 中医药防治非酒精性脂肪肝病的研究进展
隋晓丹, 邓厚波, 刘铁军

1714 维生素D与慢性肝病
朱鸣, 徐列明

1720 中药抗结直肠癌作用的研究进展
周喜汉, 黄赞松, 向发良

1726 直肠癌MRI功能和分子成像的研究进展
邢晓宏, 程英升

研究快报

1733 正加速度暴露下急性胃黏膜损伤胃组织中MDA、SOD水平的变化
邵颖铗, 李静, 陈英, 杨春敏, 范勤, 唐合兰, 贾敏, 王建昌, 辛益妹

1740 SLP-2 siRNA对裸鼠胃癌移植瘤细胞增殖及凋亡的影响
张剑, 吴敏, 王丽娟, 张红巧, 师广勇, 巴楠, 张自森, 闫琳, 郑晓珂

1745 钙池操纵的Ca^{2+}通道对人肝癌细胞增殖的影响
陈金, 于宏伟, 张宗明

临床经验

1750 盐酸右美托咪定辅助七氟醚在食管镜检查中的应用30例
周婉舒, 刘德功

1755 共聚焦激光内镜在胃溃疡性病变诊断中的临床应用价值
雷天霞, 孙思予, 葛楠, 王晟, 吕庆杰

1760 胃癌患者*TYMS*、*ERCC1*基因型在外周血和肿瘤组织中的多态性
王珊珊, 沈燕, 李慧莲, 卫肖

1766 HBeAg阳性和阴性慢性乙型肝炎患者肝组织病理结果分析158例
马俊骥, 冯丽英, 冯志杰, 姜慧卿, 孙泽明, 赵丽梅

1772 ERCP前后肝功能指标的临床意义
宋雯, 卜平, 陈超伍, 刘军, 邓登豪, 陈娟

1776 CT与B超在急性阑尾炎诊断和鉴别诊断中的应用价值
申宏, 袁菊, 洪凡, 谢翔, 卢晓明

1780 蒲地蓝消炎口服液联合三联药物根除幽门螺杆菌63例
刘华一, 张滨, 姜立根

病例报告

1785 以“幽门梗阻、肠梗阻、腹水”为表现的嗜酸粒细胞性胃肠炎1例
王宁宁, 李异玲, 孙明军

1789 蜂窝织性阑尾炎并阑尾双腔畸形1例
周庆华, 邱其武

附　　录	Ⅰ-Ⅴ　《世界华人消化杂志》投稿须知 Ⅰ　2013年国内国际会议预告
志　　谢	Ⅰ　志谢世界华人消化杂志编委
消　　息	1692　《世界华人消化杂志》修回稿须知 1700　《世界华人消化杂志》出版流程 1713　《世界华人消化杂志》参考文献要求 1719　《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 1725　中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 1732　《世界华人消化杂志》栏目设置 1739　《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 1744　《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 1754　《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 1759　中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 1765　《世界华人消化杂志》外文字符标准 1788　《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版)
封面故事	李小华, 何利平, 罗忠金. 抑癌基因*WWOX*与*p53*在胃癌组织中的表达及相互关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(18): 1701-1707 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1701.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i18.1701
本期责任人	编务 车新鑫; 送审编辑 闫晋利, 鲁亚静; 组版编辑 闫晋利; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 黄新珍; 形式规范审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编辑 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平　题写封面刊名
陈可冀　题写版权刊名
(旬刊)

创　刊 1993-01-15
改　刊 1998-01-25
出　版 2013-06-28
原刊名 新消化病学杂志

期刊名称
世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

主编
程英升, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心
党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科
江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科
刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科
刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科
吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科
马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科
王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科
姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心
张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部
田滢, 主任
《世界华人消化杂志》编辑部
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室
电话: 010-59080035
传真: 010-85381893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

出版
百世登出版集团有限公司
Baishideng Publishing Group Co., Limited
Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

制作
北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室
电话: 010-85381892
传真: 010-85381893

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

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

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

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

定价
每期68.00元 全年36期2448.00元

© 2013年版权归Baishideng所有

World Chinese Journal of Digestology

June 2013 Contents in Brief Volume 21 Number 18

BASIC RESEARCH

1685 Expression of miR-130b in esophageal squamous cell carcinoma and effect of miR-130b transfection on cell proliferation and migration in an esophageal squamous cell carcinoma cell line
Yu TT, Li S, Fu MG, Cao RS, Zhu H, Shi RH

1693 MiR495- and miR551a-mediated down-regulation of PRL-3 expression inhibits peritoneal metastasis in a mouse model of gastric cancer
Xu M, Cao Y, Jiang MM, Jie ZG, Li ZR

CLINICAL RESEARCH

1701 Expression of *WWOX* and *p53* in gastric cancer
Li XH, He LP, Luo ZJ

REVIEW

1708 Prevention and treatment of nonalcoholic fatty liver disease by traditional Chinese medicine
Sui XD, Deng HB, Liu TJ

1714 Relationship between vitamin D and chronic liver diseases
Zhu M, Xu LM

1720 Anti-colorectal cancer effects of traditional Chinese herbal medicine: Research progress
Zhou XH, Huang ZS, Xiang FL

1726 Magnetic resonance functional and molecular imaging for diagnosis of rectal cancer: Recent research advances
Xing XH, Cheng YS

RAPID COMMUNICATION

1733 Levels of MDA and SOD in acute gastric mucosal injury in rats exposed to positive acceleration
Shao YT, Li J, Chen Y, Yang CM, Fan Q, Tang HL, Jia M, Wang JC, Xin YM

1740 Effect of siRNA-mediated SLP-2 silencing on tumor cell proliferation and apoptosis in nude mice bearing gastric tumor xenografts
Zhang J, Wu M, Wang LJ, Zhang HQ, Shi GY, Ba N, Zhang ZS, Yan L, Zheng XK

1745 Effect of store-operated Ca^{2+} channels on proliferative activity of hepatoma cells
Chen J, Yu HW, Zhang ZM

CLINICAL PRACTICE

1750 Use of dexmedetomidine in patients undergoing esophagoscopy
Zhou WS, Liu DG

1755 Diagnostic value of confocal laser endoscopy in ulcerative diseases of the stomach
Lei TX, Sun SY, Ge N, Wang S, Lv QJ

1760 Comparison of *TYMS* and *ERCC1* genotypes between peripheral venous blood and tumor tissues of patients with gastric cancer
Wang SS, Shen Y, Li HL, Wei X

1766 Pathological characteristics of chronic hepatitis B in HBeAg-positive and HBeAg-negative patients: An analysis of 158 cases
Ma JJ, Feng LY, Feng ZJ, Jiang HQ, Sun ZM, Zhao LM

1772 Clinical significance of liver function indexes in patients before and after ERCP
Song W, Bo P, Chen CW, Liu J, Deng DH, Chen J

1776 Diagnostic value of CT versus BUS in detection of acute appendicitis
Shen H, Yuan J, Hong F, Xie X, Lu XM

1780 Clinical efficacy of Pudilan Oral Solution combined with triple therapy in eradicating *Helicobacter pylori*
Liu HY, Zhang B, Jiang LG

CASE REPORT

1785 Eosinophilic gastroenteritis manifesting as pyloric obstruction, intestinal obstruction and ascites: A case report
Wang NN, Li YL, Sun MJ

1789 Phlegmonous appendicitis with appendiceal cavity malformation: A case report
Zhou QH, Qiu QW

APPENDIX	I – V Instructions to authors of *World Chinese Journal of Digestology* I Meeting events calendar in 2013
ACKNOWLEDGMENT	I Acknowledgments to reviewers of *World Chinese Journal of Digestology*
COVER	*Li XH, He LP, Luo ZJ.* The expression and correlation of anti-oncogene *WWOX*, *p53* in gastric cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(18): 1701-1707 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1701.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i18.1701
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	Assistant Editor: *Xin-Xin Che* Review Editor: *Jin-Li Yan, Ya-Jing Lu* Electronic Page Editor: *Jin-Li Yan* English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Editor-in-Charge: *Xin-Zhen Huang* Proof Editor: *Ying Tian* Layout Editor: *Lian-Sheng Ma*

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

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date June 28, 2013

NAME OF JOURNAL
World Chinese Journal of Digestology

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

EDITOR-IN-CHIEF
Ying-Sheng Cheng, Professor, Medical Imaging Center, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China
Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China
Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China
Lian-Xin Liu, Professor, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China
Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China
Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hang-zhou 310006, Zhejiang Province, China
Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China
Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China
Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China
Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

EDITORIAL OFFICE
Ying Tian, Director
World Chinese Journal of Digestology
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-59080035
Fax: +86-10-85381893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

PUBLISHER
Baishideng Publishing Group Co., Limited
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,
315-321 Lockhart Road, Wan Chai,
Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188
E-mail: bpg@baishideng.com
http://www.wjgnet.com

PRODUCTION CENTER
Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-85381892
Fax: +86-10-85381893

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

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

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

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

世界华人消化杂志 2013年6月28日; 21(18): 1685-1692
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

miR-130b在食管鳞癌中的表达及对食管鳞癌细胞增殖和迁移的影响

郁婷婷, 李 硕, 傅敏根, 曹日昇, 朱 宏, 施瑞华

郁婷婷, 李硕, 傅敏根, 曹日昇, 朱宏, 施瑞华, 南京医科大学第一附属医院消化内科 江苏省南京市 210029
郁婷婷, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究.
江苏省人民医院食管疾病创新团队基金资助项目, No. CX11
作者贡献分布: 此课题由施瑞华与郁婷婷设计; 研究过程主要由郁婷婷操作完成; 李硕与傅敏根参与操作; 曹日昇与朱宏参与实验指导; 本论文数据分析及写作由郁婷婷完成.
通讯作者: 施瑞华, 教授, 主任医师, 210029, 江苏省南京市广州路300号, 江苏省南京医科大学第一附属医院消化内科.
ruihuashi@126.com
收稿日期: 2013-03-21 修回日期: 2013-05-12
接受日期: 2013-05-19 在线出版日期: 2013-06-28

Expression of miR-130b in esophageal squamous cell carcinoma and effect of miR-130b transfection on cell proliferation and migration in an esophageal squamous cell carcinoma cell line

Ting-Ting Yu, Shuo Li, Min-Gen Fu, Ri-Sheng Cao, Hong Zhu, Rui-Hua Shi

Ting-Ting Yu, Shuo Li, Min-Gen Fu, Ri-Sheng Cao, Hong Zhu, Rui-Hua Shi, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Supported by: the Esophageal Disease Innovation Research Team Fund of Jiangsu Provincial People's Hospital, No. CX11
Correspondence to: Rui-Hua Shi, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, 300 Guangzhou Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. ruihuashi@126.com
Received: 2013-03-21 Revised: 2013-05-12
Accepted: 2013-05-19 Published online: 2013-06-28

Abstract

AIM: To detect the expression of microRNA 130b (miR-130b) in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) and explore its effects on the proliferation and migration of ESCC cells *in vitro*.

METHODS: MicroRNA (miRNA) microarray was used to select dysregulated miRNAs in ESCC. The expression of miR-130b in ESCC tissue specimens and matched tumor-adjacent tissue specimens was detected by real-time PCR. After the ESCC cell line Eca109 was transfected with miR-130b mimic (miR-130bm) or miR-130b inhibitor (miR-130bi), cell proliferation and migration were determined by cell counting kit-8 (CCK-8) assay and transwell migration assay. The target genes of miR-130b were predicted by bioinformatics and verified by dual luciferase reporter gene assay. The mRNA and protein expression of target genes were detected by real-time PCR and Western blot.

RESULTS: The expression of miR-130b was higher in ESCC than in matched tumor-adjacent tissue ($P < 0.01$). The expression of miR-130b was effectively enhanced in Eca109 cells transfected with miR-130bm and down-regulated in those transfected with miR-130bi. Transfection with miR-130bm promoted the proliferation and migration of Eca109 cells, and the number of migrating cells was significantly more in miR-130bm-transfected cells than in controls (112.9 ± 2.4 *vs* 54.3 ± 1.8, $P < 0.01$). In contrast, transfection with miR-130bi suppressed cell proliferation and migration, and the average number of migrating cells was significantly less in miR-130bi-transfected cells than in controls (33.9 ± 2.3 *vs* 56.2 ± 1.9, $P < 0.01$). MiR-130b could interact with 3′-untranslated region of PTEN and down-regulate its expression. MiR-130b could negatively regulate the expression of PTEN protein and promote Akt phosphorylation, but had no effect on the expression of PTEN mRNA.

CONCLUSION: MiR-130b is overexpressed in ESCC. Overexpression of miR-130b promotes the proliferation and migration of Eca109 cells, and inhibition of miR-130b expression suppresses cellular proliferation and migration. MiR-130b can regulate the expression of PTEN at the translational level and promote Akt phosphorylation. MiR-130b may be a potential target for the therapy of ESCC.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

■背景资料
食管鳞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)发病率高, 5年生存率低, 加强其发病机制的研究有助于指导诊断和治疗. miRNAs参与调控细胞各项生物学功能, 在多种肿瘤的发生发展中具有重要的意义.

■同行评议者
唐世刚, 教授, 湖南省人民医院

■研发前沿
微小RNA-130b(miR-130b)是新近发现的一种miRNA, 已有相关研究报道在子宫内膜癌、肝癌、胃癌等恶性肿瘤中表达上调, 目前尚未有miR-130b在ESCC中的表达及功能的相关研究报道.

Key Words: Esophageal squamous cell carcinoma; MiR-130b; Proliferation; Migration

Yu TT, Li S, Fu MG, Cao RS, Zhu H, Shi RH. Expression of miR-130b in esophageal squamous cell carcinoma and effect of miR-130b transfection on cell proliferation and migration in an esophageal squamous cell carcinoma cell line. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(18): 1685-1692 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1685.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i18.1685

摘要

目的: 检测微小RNA-130b(miR-130b)在食管鳞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)组织中的表达并探讨其对ESCC细胞增殖、迁移的影响.

方法: microRNA(miRNA)芯片筛选ESCC组织中异常表达的miRNAs, TaqMan MGB探针法定量PCR检测19例ESCC组织及配对癌旁组织标本中miR-130b的表达; 通过脂质体转染模拟物miR-130b mimics(miR-130bm)促进ESCC细胞Eca109中miR-130b的表达, 转染抑制物miR-130b inhibitor(miR-130bi)抑制Eca109细胞中miR-130b的表达; 进一步采用CCK-8法和Transwell迁移实验检测ESCC细胞增殖、迁移的变化; 生物学信息预测miR-130b的靶基因, 双荧光素酶报告基因验证其靶向作用; 采用SYBR Green定量PCR和Western blot检测靶基因mRNA和蛋白表达.

结果: miR-130b在ESCC组织中的表达明显高于癌旁组织(P<0.01); 转染miR-130bm可有效增加ESCC细胞Eca109中miR-130b的表达, 进而促进Eca109细胞的增殖和迁移, 平均迁移细胞数明显多于对照(112.9±2.4 *vs* 54.3±1.8, P<0.01); 转染miR-130bi则降低细胞中miR-130b的表达; 进而抑制细胞的增殖和迁移, 平均迁移细胞数较对照明显减少(33.9±2.3 *vs* 56.2±1.9, P<0.01). miR-130b可作用于PTEN3'非翻译区抑制其表达. miR-130b可负向调控PTEN蛋白表达, 并促进Akt磷酸化, 但对PTEN mRNA表达无明显影响.

结论: miR-130b在ESCC组织中表达上调, 增加其表达促进ESCC细胞Eca109增殖和迁移, 降低其表达则抑制Eca109细胞增殖和迁移; miR-130b可在转录后水平负向调控PTEN的表达并促进Akt磷酸化. 提示miR-130b有望成为ESCC治疗的新靶点.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 食管鳞癌; miR-130b; 增殖; 迁移

核心提示: 本研究初步证实了miR-130b在食管鳞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)组织中表达上调, 具有促进ESCC细胞Eca109增殖和迁移的作用, 且可在转录后水平靶向调控PTEN蛋白的表达并促进Akt磷酸化. 本实验为ESCC发病机制的研究提供了新靶点, 为miR-130b用于ESCC的靶向治疗提供了初步的理论依据.

郁婷婷, 李硕, 傅敏根, 曹日昇, 朱宏, 施瑞华. miR-130b在食管鳞癌中的表达及对食管鳞癌细胞增殖和迁移的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(18): 1685-1692 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1685.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i18.1685

0 引言

食管癌是世界范围内高发的恶性肿瘤, 5年生存率为15%-25%, 在我国组织学类型以鳞癌为主, 加强对食管鳞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)发病机制的研究能更好地指导临床诊断和治疗[1]. 研究发现超过50%的microRNAs(miRNAs)位于肿瘤相关的染色体区域或染色体脆性位点, 可调节30%-60%人类基因的表达, 参与增殖、迁移等多种细胞生物学功能的调控, 在肿瘤的发生发展中具有重要意义[2,3]. miR-130b是新近发现的一种miRNA, 已有相关报道其在子宫内膜癌、肝癌、胃癌等恶性肿瘤中表达上调[4-6]. 目前尚未关于miR-130b在ESCC中的表达及功能的研究报道. 本实验旨在检测ESCC组织中异常表达的miRNAs, 进一步研究miR-130b对ESCC细胞株Eca109生物学功能的影响及对相关基因的调节作用, 以期为ESCC的靶向治疗提供新的理论基础.

1 材料和方法

1.1 材料 收集22例ESCC组织及22例配对癌旁组织(南京医科大学第一附属医院胸外科手术标本, 2011-09/2012-05), 患者均为Ⅰ-Ⅲ期原发性ESCC患者, 且术前未接受放、化疗, 所有组织标本均经病理学检查确认. ESCC细胞株Eca109购自中国科学院细胞库, RPMI 1640培养基、胎牛血清(南京凯基), TaqMan反转录试剂盒、TaqMan定量PCR试剂盒、SYBR Green定量PCR试剂盒、hsa-miR-130b、U6探针(Applied Biosystems), 转染物(上海吉玛, 表1), CCK-8试剂盒(碧云天), Transwell小室(Millipore), PTEN、Akt、pAkt抗体(cell signalling technology), GAPDH抗体(bioworld), 二抗(Santa Cruz), TRIzol、

表 1 各转染物及PCR引物序列表

名称	引物序列
模拟物对照	5'-UUCUCCGAACGUGUCACGUTT-3'
模拟物miR-130bm	5'-CAGUGCAAUGAUGAAAGGGCAU-3'
抑制物对照	5'-CAGUACUUUUGUGUAGUACAA-3'
抑制物miR-130bi	5'-AUGCCCUUUCAUCAUUGCACUG-3'
GAPDH	
上游引物	5'-AGCCTCAAGATCATCAGCAATG-3'
下游引物	5'-TGTGGTCATGAGTCCTTCCACG-3'
PTEN	
上游引物	5'-TTTGAAGACCATAACCCACCAC-3'
下游引物	5'-ATTACACCAGTTCGTCCCTTTC-3'

■相关报道
Li等研究发现miR-130b在子宫内膜不典型增生组织中表达上调, 在子宫内膜癌组织中上调更明显; 体内外实验证实miR-130b可靶向作用于人类*DICER*基因(*DICER1*)促进子宫内膜癌的侵袭.

PTEN、GAPDH引物、报告基因质粒(Invitrogen, 表1), 双荧光素酶报告基因检测试剂盒E1910(Promega), 其他试剂(Sigma).

1.2 方法

1.2.1 miRNA芯片检测: 用Agilent人miRNA检测芯片(产品编号: G4870A)同时对3例ESCC组织及其配对癌旁组织进行检测, 筛选出ESCC组织中异常表达的miRNAs, 此项工作由北京博奥公司代理完成.

1.2.2 细胞转染: ESCC细胞株Eca109用含10%胎牛血清的RPMI 1640培养液在37 ℃、5%CO_2恒温培养箱中培养. 取对数生长期的Eca109细胞接种于6孔板中, 用脂质体Lipofectamin^{TM}2000试剂按照说明书分别进行转染: (1)NC组: 模拟物对照; (2)miR-130bm组: 模拟物miR-130b mimics; (3)NCi组: 抑制物对照; (4)miR-130bi组: 抑制物miR-130b inhibitor. 前2组终浓度为100 nmol/L, 后2组为200 nmol/L. 转染后在培养箱中继续孵育5 h, 换成含10%胎牛血清的RPMI 1640培养液继续培养48 h, 收集各组细胞进行相关试验.

1.2.3 实时荧光定量PCR检测: 采用TaqMan MGB探针法定量PCR检测19例ESCC组织及配对癌旁组织和各转染组细胞中miR-130b的表达; 用SYBR Green定量PCR检测各转染组细胞中PTEN mRNA的表达. TRIzol法提取总RNA, 采用TaqMan反转录试剂盒合成cDNA, 反转录反应条件为: 16 ℃, 30 min; 42 ℃, 30 min; 85 ℃, 5 min; 4 ℃, ∞. 以合成的cDNA作为模板, U6(TaqMan)、GAPDH(SYBR Green)作为内参, 进一步进行PCR反应, 扩增条件如下: 50 ℃, 2 min, 95 ℃, 10 min, 1个循环; 95 ℃, 15 s, 60 ℃, 60 s, 40个循环. 结果以$2^{-\triangle\triangle Ct}$值表示.

1.2.4 CCK-8法检测细胞增殖能力: 将各转染组细胞按3000个/孔接种于96孔细胞培养板中, 每孔100 μL培养液, 分别于培养24、48、72、96 h按10 μL/孔加入CCK-8检测试剂, 在培养箱中继续孵育2 h, 450 nm测定吸光度(*A*)值, 绘制增殖曲线.

1.2.5 Transwell细胞迁移实验: 用不含血清的培养基饥饿细胞12 h同步化, 各转染组分别取200 μL细胞悬液(含1×10^5个细胞)加入底膜微孔直径为0.8 μm的Transwell小室底部, 在下室(24孔板底部)加入600 μL含10%胎牛血清的RPMI 1640培养液, 常规培养24 h后, 75%乙醇固定、结晶紫染液染色, 显微镜观察拍照, 随机取5个视野, 计算平均迁移细胞数.

1.2.6 靶基因预测: 用6.2版本TargetScan(http://www.targetscan.org/)和miRDB(http://mirdb.org/miRDB/)两个常用的miRNA靶基因预测数据库搜索miR-130b的靶基因, 并整合分析生物学信息.

1.2.7 Western blot实验: 提取各组细胞总蛋白, 10%SDS-PAGE凝胶电泳, 恒压100 V电泳, 恒流300 mA转膜, 室温封闭, 一抗PTEN(1∶1000)、Akt(1∶1000)、pAkt(1∶1000), 4 ℃孵育过夜, 二抗(1∶5000)室温孵育, 曝光、显影.

1.2.8 双荧光素酶报告基因实验: 合成携带PTEN-3'非翻译区(3'UTR)目的片段的质粒pGL3-control-PTEN-3'UTR. 按1.0×10^4个/孔将Eca109细胞接种于24孔板, 每孔100 μL液体, 生长融合至80%左右, pGL3-control-PTEN-3'UTR质粒和内参pRL-TK质粒(按质量比1000∶1), miR-130bm及NC分别共转染细胞, 每组设3个平行孔, 转染24 h后收集细胞, 用双荧光素酶报告基因检测试剂盒检测, 计算各组相对荧光素酶活性.

■创新盘点

本研究采用miRNA芯片分析技术筛选出ESCC组织中异常表达的miRNAs, 选取miR-130b进一步研究, 通过上调和下调ESCC细胞中miR-130b的表达探讨其对细胞增殖和侵袭的影响及可能的作用机制.

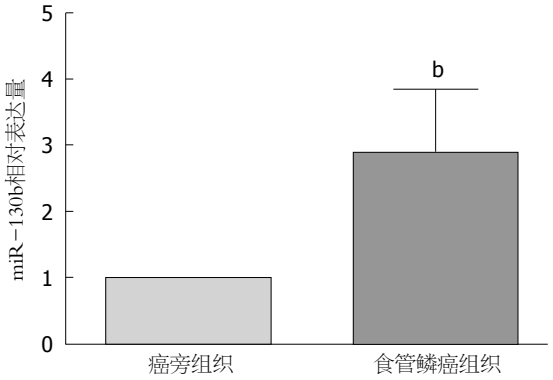


图 1 实时荧光定量PCR检测miR-130b在食管鳞癌及配对癌旁组织中的表达. $^{b}P<0.01$ *vs* 癌旁组织.

统计学处理 实验数据使用SPSS17.0进行统计分析, 数据以mean±SD表示, 采用配对*t*检验比较ESCC组织和癌旁组织中miR-130b表达的差异, 两组指标间比较采用LSD-*t*检验; $P<0.05$为有显著性差异.

2 结果

2.1 miR-130b在ESCC组织中的表达及其在细胞中转染miR-130bm和miR-130bi后的表达变化 miRNA芯片分析结果以*t*检验显示有显著统计学差异($P<0.05$), 表达量变化>2.0作为筛选条件, 与癌旁组织相比, 共有51个miRNAs在ESCC组织中表达上调, 其中miR-130b上调5.18倍. 定量PCR进一步证实miR-130b在ESCC组织中表达上调, 其相对表达量为2.87±0.97($P<0.01$, 图1). miR-130bm组细胞中miR-130b表达量较NC组明显升高; 130bi组较NCi组则明显下降($P<0.01$).

2.2 miR-130b对ESCC细胞Eca109增殖的影响 CCK-8检测结果示NC组和miR-130bm组、NCi组和miR-130bi组*A*值分别在24 h处达同步化, 无统计学差异(表2). 在48、72、96 h各时间点, 转染miR-130b mimics均可促进Eca109细胞的增殖, 而转染miR-130b inhibitor则抑制Eca109细胞的增殖($P<0.05$, 表2, 图2).

2.3 miR-130b对ESCC细胞Eca109迁移的影响 Transwell检测结果示各转染组细胞在24 h后均能穿过滤过膜(图3); miR-130bm组平均迁移细胞数明显多于对照NC组(112.9±2.4 *vs* 54.3±1.8); miR-130bi组平均迁移细胞数则少于对照NCi组(33.9±2.3 *vs* 56.2±1.9); 差异均有统计学意义($P<0.01$, 图3).

2.4 miR-130b对PTEN的靶向作用 TargetScan和miRDB预测结果均显示PTEN可能为miR-130b靶基因之一, TargetScan提示miR-130b与

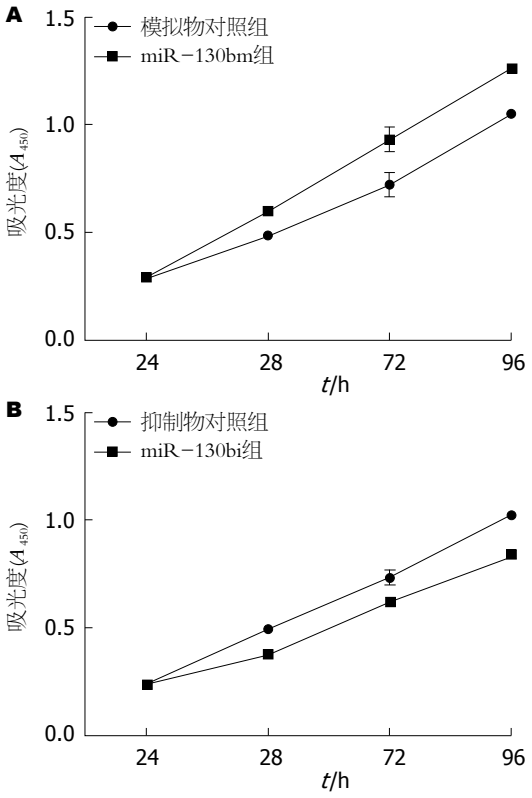


图 2 转染miR-130bm及转染miR-130bi对食管鳞癌细胞Eca109增殖的影响. A: 转染miR-130b模拟物及转染其对照组; B: 转染miR-130b抑制物及转染其对照组.

PTEN mRNA 3'UTR碱基不完全互补配对. 双荧光素酶报告基因检测结果示miR-130bm组的相对荧光素酶活性较对照NC组下降达50%以上($P<0.05$, 图4).

2.5 miR-130b对PTEN蛋白及mRNA表达的影响 Western blot结果示miR-130bm组PTEN蛋白表达明显受抑制, 其相对表达量为0.63±0.01($P<0.05$), 而miR-130bi组PTEN蛋白表达量增加, 其相对表达量为1.41±0.08($P<0.05$, 图5); SYBR Green定量PCR结果示miR-130bm组和NC组、miR-130bi组和NCi组分别相比, PTEN mRNA表达均无统计学差异.

2.6 miR-130b对Akt磷酸化的影响 Western blot结果示转染miR-130b mimics促进Akt磷酸化, 其相对表达量为1.84±0.13($P<0.05$), 转染miR-130b inhibitor则抑制Akt磷酸化, 其相对表达量为0.74±0.01($P<0.05$, 图5); 而总Akt蛋白表达量变化无统计学差异.

3 讨论

ESCC的发生发展是一个多阶段、多因素相互作用的过程, 可能与原癌基因的激活、抑癌基因的失活、肿瘤转移抑制基因异常等有关[7,8],

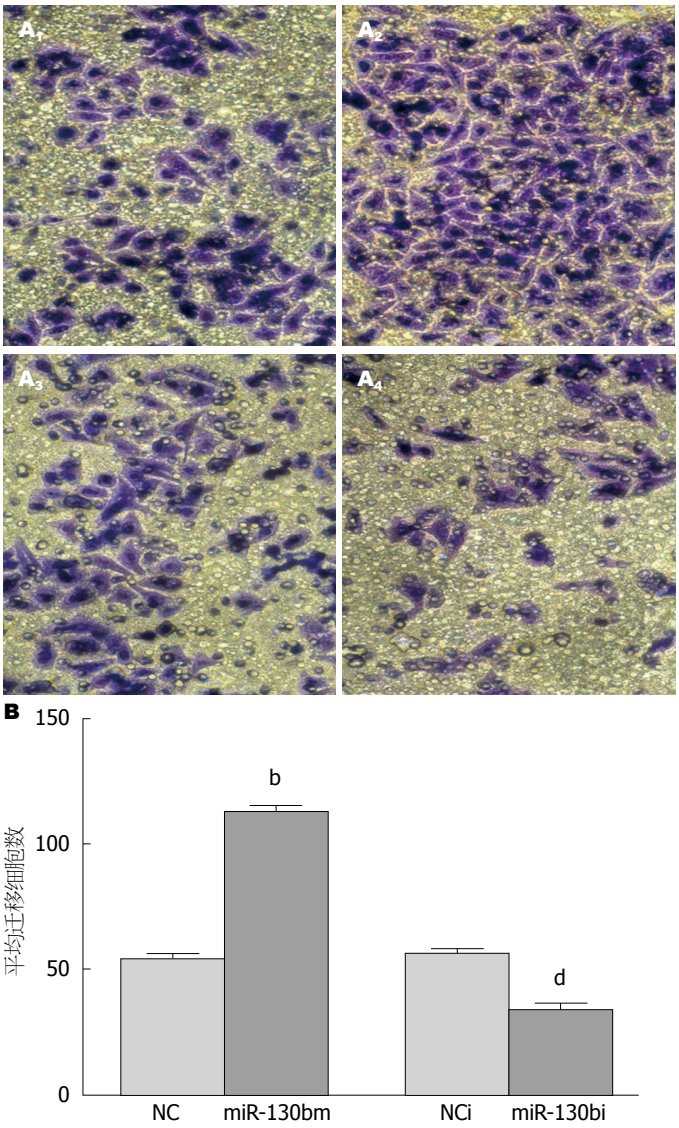


图 3 转染miR-130bm及转染miR-130bi对食管鳞癌细胞Eca109迁移的影响. A: Transwell迁移实验显微镜下照片: A_1: NC; A_2: miR-130bm; A_3: NCi; A_4: miR-130bi; B: 各转染组平均迁移细胞数. $^bP<0.01$ *vs* NC, $^dP<0.01$ *vs* NCi. NC: 模拟物对照组; miR-130bm: miR-130b模拟物组; NCi: 抑制物对照组; miR-130bi: miR-130b抑制物组.

■应用要点

本实验为ESCC发病机制研究提供了新靶点, 为miR-130b用于ESCC的靶向治疗提供了初步的理论依据.

但其发病机制仍未完全阐明. miRNA是1993年首次发现的一类非编码内源性小分子RNA[9], 研究表明在多种肿瘤中均存在miRNA的表达异常, 通过形成庞大的调控网络, 在肿瘤的发生发展过程中起着至关重要的调节作用[10,11]. 目前miRNA在ESCC方面的研究开展仍较少[12]. 本研究首先采用miRNA芯片分析技术筛选出在ESCC组织中表达异常的miRNA, 其中表达显著上调的miR-21、miR-223等在ESCC方面已有相关研究报道[13,14], 而表达上调5.18倍的miR-130b在ESCC中的表达及功能未有相关报道.

Wu等[15]报道ESCC组织中33个miRNAs表达上调, 40个表达下调, 与本研究miRNA芯片分析结果存在一定的差异. 由此考虑到miRNA芯片结果可能具有一定的假阳性, 本研究扩大组织样本量, 采用TaqMan实时荧光定量PCR进一步证实miR-130b在ESCC组织中的表达上调. 肿瘤细胞的异常增殖和迁移是肿瘤发生发展过程中的重要环节, 我们通过转染miR-130b mimics和miR-130b inhibitor研究miR-130b在ESCC细胞Eca109中表达升高和降低对细胞增殖和迁移的影响, 结果显示过表达miR-130b促进Eca109细胞的增殖和迁移, 抑制miR-130b的表达使Eca109细胞的增殖和迁移能力减弱, 提示miR-130b在ESCC中具有促癌倾向. 已有研究报道miR-130b在子宫内膜癌、肝癌、胃癌等肿瘤中表达上调, 可促进肿瘤细胞增殖、迁移侵袭和增加对化疗药物的耐药性[3-5]; 而在卵巢癌、甲状腺乳头状癌等肿瘤组织中表达下调, 与肿瘤的侵袭性及对化疗药物的敏感性呈负相关[16,17]. 总之, miR-130b在不同的肿瘤中存在表达差异, 可能与肿瘤的组织特异性有关. 目前普遍认为在肿瘤中表达上调的miRNA通过抑制抑癌基因或调控细胞分化、凋亡的相关基因促进肿瘤生长, 发挥促癌作用, 而低表达的miRNA则抑制促癌基因发挥抑癌作用[18], 对miR-130b靶基因的

■同行评价
本研究总体设计合理，方法可靠，结论可信，有一定的实际指导意义.

表 2 各转染组细胞在不同时间点的吸光度(A)值 (mean ± SD)

分组	24 h	48 h	72 h	96 h
模拟物对照组	0.287 ± 0.003	0.486 ± 0.004	0.723 ± 0.057	1.049 ± 0.064
miR-130b模拟物组	0.293 ± 0.003	0.601 ± 0.008	0.932 ± 0.056	1.263 ± 0.015
抑制物对照组	0.249 ± 0.009	0.499 ± 0.010	0.738 ± 0.033	1.026 ± 0.010
miR-130b抑制物组	0.246 ± 0.005	0.383 ± 0.014	0.627 ± 0.007	0.841 ± 0.023

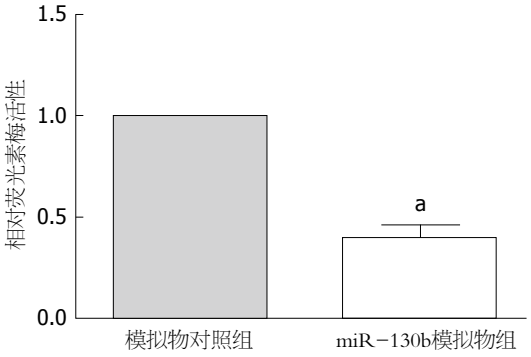


图 4 双荧光素酶报告基因验证miR-130b对PTEN3'非翻译区的靶向作用. $^aP<0.05$ *vs* 模拟物对照组.

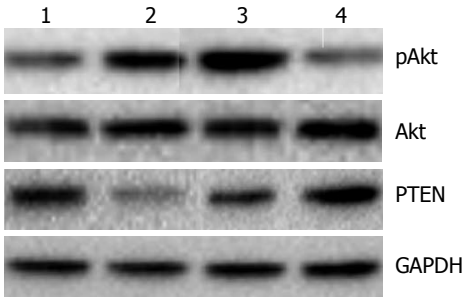


图 5 PTEN、AKT、磷酸化AKT蛋白表达的变化. 1: 模拟物对照组; 2: miR-130b模拟物组; 3: 抑制物对照组, 4: miR-130b抑制物组.

研究有助于进一步明确其在ESCC中的作用机制. 根据靶基因预测结果, 作为重要抑癌基因之一的人第10号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源的基因(phosphatase and tensin homologue, PTEN)引起了我们的注意.

PTEN是迄今为止发现的第一个具有双特异性磷酸酶活性的抑癌基因, 位于染色体10q23区域, 其结构和功能异常存在于人类多种恶性肿瘤中[19-22]. PTEN作为Akt重要的上游因子, 可使磷酸酰肌醇三磷酸(phosphatidyl-inositol 3,4,5 trisphosphate, PIP3)脱磷酸化, 减少PIP3在浆膜上的积聚, 进而抑制Akt家族蛋白的磷酸化, 阻碍下游通路的激活, 最终抑制肿瘤细胞增殖、迁移及血管生成等[23]. Chang等[24]采用免疫组织化学方法检测PTEN蛋白在64例ESCC组织和64例配对正常食管上皮组织中的表达, 结果显示PTEN蛋白在ESCC组织中的表达量显著低于正常食管上皮组织. 而后Zhou等[25]采用腺病毒转染技术, 通过体内外试验证实PTEN在ESCC中可抑制细胞增殖, 促进凋亡, 减缓肿瘤的生长, 发挥抑癌基因的作用. 研究表明PTEN在多种人类恶性肿瘤中均存在基因突变或缺失, 但在ESCC中的发生率较低, 仅表现为蛋白表达的普遍降低[26]. 由此推断, PTEN在ESCC中的表达可能存在其他调控机制. Meng等[27]在肝癌中首次证实miR-21可与PTEN mRNA 3'UTR直接结合, 靶向抑制PTEN促进肝癌细胞的增殖和迁移侵袭. 随后相继有研究发现miR-221/222, miR-22可靶向作用于PTEN激活Akt信号通路发挥促癌作用[28,29]. 近期研究发现miR-216a/217可靶向结合PTEN和SMAD7增加肝癌复发率及对化疗药物的耐药性[30]. 这些研究报道提示在某些特定的恶性肿瘤中, miRNA的表达异常参与了PTEN表达的调控. 因此, 我们选择PTEN作为研究miR-130b在ESCC中作用机制的靶点分子. 由于靶基因预测存在很高的假阳性率, 本研究采用双荧光素酶报告基因实验证实miR-130b可作用于PTEN mRNA的3'UTR调控其表达. 大量研究表明miRNA可与靶基因mRNA 3'UTR序列完全或不完全互补配对结合, 进而促进靶基因的mRNA降解或抑制其蛋白表达, 在转录或转录后水平调控靶基因的表达[31]. 本实验结果表明miR-130b在转录后水平调控PTEN的表达, 并促进Akt磷酸化，这一过程可能是miR-130b促进ESCC细胞增殖、迁移的作用机制之一.

总之, 本研究初步证实了miR-130b在ESCC组织中表达上调, 具有促进ESCC细胞Eca109增殖和迁移的作用; 且可在转录后水平靶向调控PTEN的表达并促进Akt磷酸化. 本实验为ESCC发病机制研究提供了新靶点, 为miR-130b用于ESCC的靶向治疗提供了初步的理论依据. 但miR-130b靶向抑制PTEN, 促进Akt磷酸化后具体激活的信号通路, 及其在ESCC病变进展过程

中的作用, 有待进一步研究阐明.

4 参考文献

1 Pennathur A, Gibson MK, Jobe BA, Luketich JD. Oesophageal carcinoma. *Lancet* 2013; 381: 400-412 [PMID: 23374478 DOI: 10.1016/S0140-6736(12)60643-6]

2 Song JH, Meltzer SJ. MicroRNAs in pathogenesis, diagnosis, and treatment of gastroesophageal cancers. *Gastroenterology* 2012; 143: 35-47. e2 [PMID: 22580099 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.05.003]

3 Bhatti I, Lee A, Lund J, Larvin M. Small RNA: a large contributor to carcinogenesis? *J Gastrointest Surg* 2009; 13: 1379-1388 [PMID: 19373515 DOI: 10.1007/s11605-009-0887-6]

4 Li BL, Lu C, Lu W, Yang TT, Qu J, Hong X, Wan XP. miR-130b is an EMT-related microRNA that targets DICER1 for aggression in endometrial cancer. *Med Oncol* 2013; 30: 484 [PMID: 23392577 DOI: 10.1007/s12032-013-0484-0]

5 Ma S, Tang KH, Chan YP, Lee TK, Kwan PS, Castilho A, Ng I, Man K, Wong N, To KF, Zheng BJ, Lai PB, Lo CM, Chan KW, Guan XY. miR-130b Promotes CD133(+) liver tumor-initiating cell growth and self-renewal via tumor protein 53-induced nuclear protein 1. *Cell Stem Cell* 2010; 7: 694-707 [PMID: 21112564 DOI: 10.1016/j.stem.2010.11.010]

6 Lai KW, Koh KX, Loh M, Tada K, Subramaniam MM, Lim XY, Vaithilingam A, Salto-Tellez M, Iacopetta B, Ito Y, Soong R. MicroRNA-130b regulates the tumour suppressor RUNX3 in gastric cancer. *Eur J Cancer* 2010; 46: 1456-1463 [PMID: 20176475 DOI: 10.1016/j.ejca.2010.01.036]

7 Radojicic J, Zaravinos A, Spandidos DA. HPV, KRAS mutations, alcohol consumption and tobacco smoking effects on esophageal squamous-cell carcinoma carcinogenesis. *Int J Biol Markers* 2012; 27: 1-12 [PMID: 22020370]

8 Hongo M, Nagasaki Y, Shoji T. Epidemiology of esophageal cancer: Orient to Occident. Effects of chronology, geography and ethnicity. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 729-735 [PMID: 19646015 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2009.05824.x]

9 Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14. *Cell* 1993; 75: 843-854 [PMID: 8252621]

10 Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs - microRNAs with a role in cancer. *Nat Rev Cancer* 2006; 6: 259-269 [PMID: 16557279]

11 Bandyopadhyay S, Mitra R, Maulik U, Zhang MQ. Development of the human cancer microRNA network. *Silence* 2010; 1: 6 [PMID: 20226080 DOI: 10.1186/1758-907X-1-6]

12 Gu J, Wang Y, Wu X. MicroRNA in the pathogenesis and prognosis of esophageal cancer. *Curr Pharm Des* 2013; 19: 1292-1300 [PMID: 23092349]

13 Ma WJ, Lv GD, Tuersun A, Liu Q, Liu H, Zheng ST, Huang CG, Feng JG, Wang X, Lin RY, Sheyhidin I, Lu XM. Role of microRNA-21 and effect on PTEN in Kazakh's esophageal squamous cell carcinoma. *Mol Biol Rep* 2011; 38: 3253-3260 [PMID: 21104017 DOI: 10.1007/s11033-010-0480-9]

14 Li S, Li Z, Guo F, Qin X, Liu B, Lei Z, Song Z, Sun L, Zhang HT, You J, Zhou Q. miR-223 regulates migration and invasion by targeting Artemin in human esophageal carcinoma. *J Biomed Sci* 2011; 18: 24 [PMID: 21453483 DOI: 10.1186/1423-0127-18-24]

15 Wu BL, Xu LY, Du ZP, Liao LD, Zhang HF, Huang Q, Fang GQ, Li EM. MiRNA profile in esophageal squamous cell carcinoma: downregulation of miR-143 and miR-145. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 79-88 [PMID: 21218087 DOI: 10.3748/wjg.v17.i1.79]

16 Yang C, Cai J, Wang Q, Tang H, Cao J, Wu L, Wang Z. Epigenetic silencing of miR-130b in ovarian cancer promotes the development of multidrug resistance by targeting colony-stimulating factor 1. *Gynecol Oncol* 2012; 124: 325-334 [PMID: 22005523 DOI: 10.1016/j.ygyno.2011.10.013]

17 Yip L, Kelly L, Shuai Y, Armstrong MJ, Nikiforov YE, Carty SE, Nikiforova MN. MicroRNA signature distinguishes the degree of aggressiveness of papillary thyroid carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2011; 18: 2035-2041 [PMID: 21537871 DOI: 10.1245/s10434-011-1733-0]

18 Babashah S, Soleimani M. The oncogenic and tumour suppressive roles of microRNAs in cancer and apoptosis. *Eur J Cancer* 2011; 47: 1127-1137 [PMID: 21402473 DOI: 10.1016/j.ejca.2011.02.008]

19 Song MS, Salmena L, Pandolfi PP. The functions and regulation of the PTEN tumour suppressor. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2012; 13: 283-296 [PMID: 22473468 DOI: 10.1038/nrm3330]

20 Waniczek D, Snietura M, Młynarczyk-Liszka J, Pigłowski W, Kopeć A, Lange D, Rudzki M, Arendt J. PTEN expression profiles in colorectal adenocarcinoma and its precancerous lesions. *Pol J Pathol* 2013; 64: 15-20 [PMID: 23625595]

21 Panagiotou I, Tsiambas E, Lazaris AC, Kavantzas N, Konstantinou M, Kalkandi P, Ragkos V, Metaxas GE, Roukas DK, Vilaras G, Patsouris E. PTEN expression in non small cell lung carcinoma based on digitized image analysis. *J BUON* 2012; 17: 719-723 [PMID: 23335531]

22 Squarize CH, Castilho RM, Abrahao AC, Molinolo A, Lingen MW, Gutkind JS. PTEN Deficiency Contributes to the Development and Progression of Head and Neck Cancer. *Neoplasia* 2013; 15: 461-471 [PMID: 23633918]

23 Xu M, Mo YY. The Akt-associated microRNAs. *Cell Mol Life Sci* 2012; 69: 3601-3612 [PMID: 22936352 DOI: 10.1007/s00018-012-1129-8]

24 Chang D, Wang TY, Li HC, Wei JC, Song JX. Prognostic significance of PTEN expression in esophageal squamous cell carcinoma from Linzhou City, a high incidence area of northern China. *Dis Esophagus* 2007; 20: 491-496 [PMID: 17958724]

25 Zhou YA, Zhang T, Zhao JB, Wang XP, Jiang T, Gu ZP, Wang XN, Li XF. The adenovirus-mediated transfer of PTEN inhibits the growth of esophageal cancer cells in vitro and in vivo. *Biosci Biotechnol Biochem* 2010; 74: 736-740 [PMID: 20378992]

26 Hou G, Lu Z, Liu M, Liu H, Xue L. Mutational analysis of the PTEN gene and its effects in esophageal squamous cell carcinoma. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 1315-1322 [PMID: 21116717 DOI: 10.1007/s10620-010-1474-0]

27 Meng F, Henson R, Wehbe-Janek H, Ghoshal K, Jacob ST, Patel T. MicroRNA-21 regulates expression of the PTEN tumor suppressor gene in human hepatocellular cancer. *Gastroenterology* 2007; 133: 647-658 [PMID: 17681183]

28 Garofalo M, Di Leva G, Romano G, Nuovo G, Suh SS, Ngankeu A, Taccioli C, Pichiorri F, Alder H, Secchiero P, Gasparini P, Gonelli A, Costinean S, Acunzo M, Condorelli G, Croce CM. miR-221&

amp; 222 regulate TRAIL resistance and enhance tumorigenicity through PTEN and TIMP3 down-regulation. *Cancer Cell* 2009; 16: 498-509 [PMID: 19962668 DOI: 10.1016/j.ccr.2009.10.014]
29 Bar N, Dikstein R. miR-22 forms a regulatory loop in PTEN/AKT pathway and modulates signaling kinetics. *PLoS One* 2010; 5: e10859 [PMID: 20523723 DOI: 10.1371/journal.pone.0010859]
30 Xia H, Ooi LL, Hui KM. MiR-216a/217-induced epithelial-mesenchymal transition targets PTEN and SMAD7 to promote drug resistance and recurrence of liver cancer. *Hepatology* 2013 Mar 7. *[Epub ahead of print]* [PMID: 23471579 DOI: 10.1002/hep.26369]
31 Filipowicz W, Bhattacharyya SN, Sonenberg N. Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: are the answers in sight? *Nat Rev Genet* 2008; 9: 102-114 [PMID: 18197166 DOI: 10.1038/nrg2290]

编辑 田滢 电编 闫晋利

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》修回稿须知

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

1 修回稿信件

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

2 稿件修改

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

3 版权

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

世界华人消化杂志 2013年6月28日; 21(18): 1693-1700
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

miR495、miR551a靶向干扰PRL-3表达抑制胃癌腹膜转移

许 牧, 曹 毅, 蒋蒙蒙, 揭志刚, 李正荣

许牧, 蒋蒙蒙, 南昌大学研究生院医学部 南昌大学第一附属医院胃肠外科 江西省南昌市330006
曹毅, 揭志刚, 李正荣, 南昌大学第一附属医院胃肠外科 江西省南昌市 330006
许牧, 在读硕士, 主要从事胃肠肿瘤基础及临床的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 30901429
作者贡献分布: 此课题由许牧与曹毅设计; 研究过程由李正荣与揭志刚指导; 研究所用部分材料由蒋蒙蒙提供; 数据分析与论文写作由许牧与曹毅完成.
通讯作者: 李正荣, 副教授, 330006, 江西省南昌市永外正街17号, 南昌大学第一附属医院胃肠外科. lzr13@foxmail.com
电话: 0791-88692522
收稿日期: 2013-03-11 修回日期: 2013-05-15
接受日期: 2013-05-25 在线出版日期: 2013-06-28

MiR495- and miR551a-mediated down-regulation of PRL-3 expression inhibits peritoneal metastasis in a mouse model of gastric cancer

Mu Xu, Yi Cao, Meng-Meng Jiang, Zhi-Gang Jie, Zheng-Rong Li

Mu Xu, Meng-Meng Jiang, Department of Gastrointestinal Surgery, the First Affiliated Hospital of Nanchang University; Graduate School of Medicine of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China
Yi Cao, Zhi-Gang Jie, Zheng-Rong Li, Department of Gastrointestinal Surgery, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30901429
Correspondence to: Zheng-Rong Li, Associate Professor, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, 17 Yongwai Zhengjie, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. lzr13@foxmail.com
Received: 2013-03-11 Revised: 2013-05-15
Accepted: 2013-05-25 Published online: 2013-06-28

Abstract

AIM: To investigate the effect of miR495 and miR551 on PRL-3 expression in gastric cancer SGC7901 cells to explore gene interference therapies for gastric cancer.

METHODS: SGC7901 cells stably transfected with miR495 or miR551a and non-transfected SGC7901 cells were inoculated intraperitoneally in BALB/CA (nu/nu) nude mice. One month after inoculation, the mice were killed to observe the rate of tumor formation, tumor growth and migration. Real-time PCR was performed to quantify mRNA levels of miR495, miR551a and PRL-3.

RESULTS: Compared to nude mice inoculated with non-transfected cells, miR495 and miR551a levels were increased, PRL-3 level was decreased, and migration of gastric cancer was suppressed in mice inoculated with SGC7901 cells stably transfected with miR495 or miR551a.

CONCLUSION: MiR495 and miR551a can suppress the migration of gastric cancer by inhibiting PRL-3 expression in mice.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: MiR495; Mi551a; Phosphatase of regenerating liver-3; Gastric cancer; Animal model

Xu M, Cao Y, Jiang MM, Jie ZG, Li ZR. MiR495- and miR551a-mediated down-regulation of PRL-3 expression inhibits peritoneal metastasis in a mouse model of gastric cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(18): 1693-1700 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1693.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i18.1693

摘要

目的: 研究miR495、miR551a干扰质粒对SGC7901胃癌细胞中促肝细胞再生磷酸酶-3(phosphatase of regenerating liver-3, PRL-3)表达的影响, 探讨基因干扰在胃癌治疗中的价值.

方法: 分别体外培养稳定转染后的SGC7901细胞系及未经处理的SGC7901细胞系, 取对数生长期瘤细胞, 0.5 mL(1×10^7/mL)细胞悬液接种于Balb/ca(nu/nu)裸鼠腹腔内, 在SPF条件下饲养1 mo后处死, 观察裸鼠成瘤率、瘤体生长情况及腹膜转移等情况, 并行组织病理学检查. 取各组部分移植瘤行荧光定量PCR检测, 对比各组miR495、miR551a及PRL-3mRNA的相对表达水平.

■背景资料
胃癌是消化系最常见的肿瘤, 治疗方式多为手术切除, 但患者术后胃癌腹膜转移率较高, 且一旦患者术后发生胃癌腹膜转移, 预后较差. 因此从分子水平探寻胃癌腹膜转移的机制, 为诊断、治疗胃癌腹膜转移提供有力的依据已迫在眉睫.

■同行评议者
刘颖斌, 主任医师, 上海交通大学医学院附属新华医院

■研发前沿
促肝细胞再生磷酸酶-3(phosphatase of regenerating liver-3, PRL-3)是近年来发现的属于蛋白酪氨酸磷酸酶PTPs(protein tyrosine phosphatases)家族的成员, 研究表明PRL-3与肿瘤的转移密切相关. 通过干扰PRL-3表达的下调, 达到抑制肿瘤转移的目的.

结果: 各组裸鼠成瘤率均100%, 其中两实验组裸鼠一般情况及生存期均好于对照组. 取各组移植瘤行荧光定量PCR检测显示, 两实验组裸鼠miRNA表达量显著高于对照组, PRL-3 mRNA表达量低于对照组. 转染质粒组胃癌迁移能力明显减弱.

结论: 转染靶向干扰PRL-3表达的miR495、mi551a真核质粒可以明显抑制胃癌细胞体内转移侵袭能力.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: miR495;miR551a; **促肝细胞再生磷酸酶-3; 胃癌; 动物模型**

核心提示: 促肝细胞再生磷酸酶-3(phosphatase of regenerating liver-3, PRL-3)在胃癌细胞转移侵袭中起着重要的作用, 通过miR495、miR551a质粒靶向干扰PRL-3表达的下调可以抑制PRL-3 mRNA的表达, 可以降低胃癌细胞在裸鼠体内转移侵袭的能力.

许牧, 曹毅, 蒋蒙蒙, 揭志刚, 李正荣. miR495、miR551a靶向干扰PRL-3表达抑制胃癌腹膜转移. 世界华人消化杂志 2013; 21(18): 1693-1700 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1693.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i18.1693

0 引言

胃癌是对人类健康威胁极大的恶性肿瘤, 其仍是世界上第4大常见肿瘤及肿瘤相关死亡的第2大原因[1]. 尽管现代医学诊断有着显著的进步, 但临床上诊治的胃癌多为中、晚期. 接受一期手术及术后放化疗的患者预后仍不理想, 术后胃癌腹膜转移是最重要、最常见的死亡原因[2]. 伴有腹膜转移的晚期胃癌患者5年生存率仅为15.3%[3]. 因此, 从分子水平探索胃癌腹膜转移发生、发展的机制, 为胃癌诊断和治疗提供新的理论和依据. microRNA(miRNA)是一类内源性非蛋白编码的单链小分子RNA, 其广泛参与调控基因表达、细胞增殖、分化及凋亡等多种生物过程. miRNA的发现为研究肿瘤转移的基因表达调控机制提供了新的视角, 为诊断和治疗癌症提供了一个强大的工具[4]. 促肝细胞再生磷酸酶-3(phosphatase of regenerating liver-3, PRL-3)是新近发现的与肿瘤转移密切相关的蛋白酪氨酸磷酸酶. 已有报道证实其在胃癌中呈高表达[5]. 我们的前期研究中发现PRL-3在腹膜转移灶中有高表达[6,7]并发现miR495和miR551a在胃癌组织中呈明显低表达. 进一步体外实验中我们构建了miR495和miR551a的真核表达载体, 转染胃癌SGC7901细胞, 并证实其抑制胃癌SGC7901细胞*PRL-3*基因的表达[8]. 在此次的研究中, 我们构建了miR495、miR551a靶向干扰SGC7901细胞*PRL-3*基因裸鼠胃癌转移瘤模型, 观察裸鼠成瘤率、瘤体生长及腹膜转移等情况, 并行组织病理学检查, 进一步在体内实验中证实miR495、miR551a靶向干扰效果.

1 材料和方法

1.1 材料 胃癌细胞株SGC7901购自上海中科院细胞库. 在我们的前期研究中成功构建并稳定转染miR495、miR551a及无关序列质粒的胃癌细胞SCG7901[9]. 胃癌细胞株均使用DMEM+10%胎牛血清培养液, 置于36.5 ℃、5%CO_2恒温孵育箱中培养. 取生长对数期细胞进行实验, 用0.25%胰酶消化细胞, 制成细胞悬液并计数. 台盼蓝染色测试细胞活性>98%, 调整细胞浓度1×10^7个/mL. 4-6 wk裸鼠(Balb/ca nu/nu), 共48只, 雌雄各半, 体质量17-20 g, 购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司[实验动物许可证号SCXK(湘)2011-0003]. 所有裸鼠均在无特殊病原体(specific pathogen free, SPF)条件下饲养. 温度25 ℃左右, 空气流速为20 cm^3/s, 空气相对湿度为55%. 所用食物和水均灭菌处理. 将48只裸鼠随机分成4组: miR495实验组为接种稳定转染miR495真核表达载体的胃癌SGC7901细胞, 共12只; miR551a实验组为接种稳定转染miR551a真核表达载体的胃癌SGC7901细胞, 共12只; 空白对照组为接种转染无关序列质粒的SGC7901细胞, 共12只; 阴性对照组为接种未经处理的胃癌SGC7901细胞, 共12只.

1.2 方法

1.2.1 移植瘤模型的建立: 所有裸鼠用1%的戊巴比妥钠50 mg/kg剂量腹腔注射进行麻醉. 于裸鼠腹部正中作一0.1 cm大小的切口, 按以上分组将(1×10^7/mL)0.5 mL未处理胃癌SGC7901及稳定转染miR495、miR551a、无关序列质粒的胃癌细胞SCG7901悬浮液注入裸鼠腹腔内, 关腹.

1.2.2 裸鼠生长和腹腔内成瘤情况的观察: 观察裸鼠精神状态、活动、饮食等情况. 在SPF条件下饲养30 d后各组处死6只裸鼠, 观察裸鼠腹腔

■相关报道
目前, 已有研究表明PRL-3在多种肿瘤组织中呈高表达, 且抑制肿瘤细胞中PRL-3的表达可以降低肿瘤的转移性, 但PRL-3在肿瘤转移过程中所发挥的机制尚不清楚, 有待进一步的研究.

表 1 miRNA茎环逆转录引物设计

引物名称	引物序列
miR495	RT: 5'- GCGCGTGAGCAGGCTGGAGAAATTAACCACGCGCAAGAAG-3'
	F: 5'-AAACAAACATGGTGCA-3'
	R: 5'-GAGCAGGCTGGAGAA-3'
miR551a	RT: 5'-GCGCGTGAGCAGGCTGGAGAAATTAACCACGCGCTGGAAAC-3'
	F: 5'-GCGACCCACTCTTG-3'
	R: 5'-GAGCAGGCTGGAGAA-3'
U6	RT: 5'-CGCTTCACGAATTTGCGTGTCAT-3'
	F: 5'- CTCGCTTCGGCAGCACATA-3'
	R: 5'- CGCTTCACGAATTTGCGTG-3'

RT: 茎环引物; F: 上游引物; R: 下游引物.

表 2 PRL-3的引物设计

引物名称	引物序列
PRL-3	F: 5'- GGGACTTCTCAGGTCGTGTC-3'
	R: 5'- AGCCCCGTACTTCTTCAGGT-3'
β-actin	F: 5'- TCATCACCATTGGCAATGAG-3'
	R: 5'- CACTGTGTTGGCGTACAGGT-3'

PRL-3: 促肝细胞再生磷酸酶-3; F: 上游引物; R: 下游引物.

内成瘤率、瘤体生长及腹膜转移等情况, 切取部分瘤体行组织病理学染色. 各组剩余裸鼠继续饲养观察其生存周期.

1.2.3 实时荧光定量PCR检测转移瘤中miR495、miR551a及PRL-3在mRNA的表达水平: 实时荧光定量PCR试剂TRIzol试剂盒(购自Invitrogen公司); RevertAid^{TM} First Strand cDNA Synthesis Kit(购自Fermentas公司); Real-time SYBR Premix Ex Taq试剂盒(购自TaKaRa公司). miRNA茎环逆转录引物及PRL-3 mRNA实时荧光定量PCR引物设计见表1, 2. 第30天处死裸鼠, 各组取部分肿瘤组织, 采用TRIzol试剂盒提取组织总RNA, RevertAidTM First Strand cDNA Synthesis Kit反转录获取cDNA, 实时荧光定量PCR反应选用Real-time SYBR Premix Ex Taq试剂盒. PCR扩增反应条件: 95 ℃ 4 min; 95 ℃ 20 s, 60 ℃ 30 s, 70 ℃ 30 s, 共循环35次, 采用U6 snRNA及β-actin分别作为两组miRNA及*PRL-3*基因的内参照, 绘制PCR扩增曲线. 通过对比miR495、miR551a与U6 snRNA及*PRL-3*与*β-actin*基因的循环阈(Ct)值,评价miR495、miR551a及PRL-3 mRNA相对表达水平. 用相对定量方法($2^{-\triangle\triangle Ct}$)分析PCR检测结果.

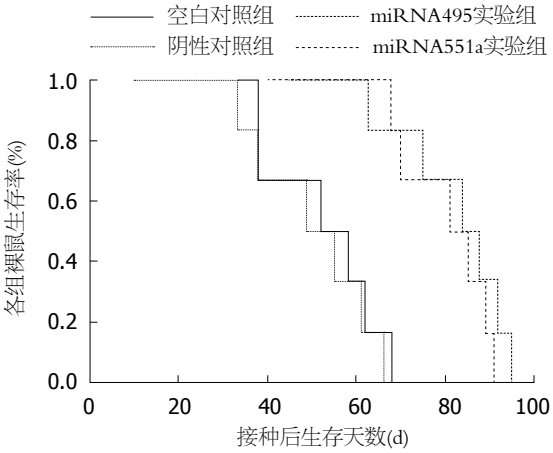


图 1 4组裸鼠生存期比较. 两实验组生存周期显著长于两对照组.

统计学处理 实验数据均采用mean±SD表示, 采用SPSS13.0统计软件. 计量资料采用单因素方差分析. 设P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 成瘤率、生存周期及裸鼠一般情况 各组裸鼠成瘤率均为100%(12/12). 裸鼠接种后7 d一般情况无明显异常. 接种14 d后两对照组裸鼠出现精神萎靡、食欲差、畏寒、行动迟缓. 实验组裸鼠一般情况良好. 其中, miR495实验组、miR551a实验组与空白对照组、阴性对照组裸鼠中位生存期分别为84、81 d及52、49 d. 表明两实验组裸鼠生存周期明显长于对照组(图1).

2.2 移植瘤的生长及腹膜转移情况 在SPF条件下饲养30 d后处死各组裸鼠6只观察移植瘤生长情况, 其中miR495实验组及miR551a实验组可见大网膜、肠系膜有散在转移结节, 结节呈灰白

■创新盘点

通过腹腔注入胃癌细胞构建裸鼠腹腔转移瘤模型是一种实用、操作简单、成瘤率高、且容易形成转移灶的实验动物模型. 在此基础上,我们通过microRNA质粒靶向干扰PRL的表达, 并以此评估PRL-3表达的下调抑制胃癌腹膜转移的效果.

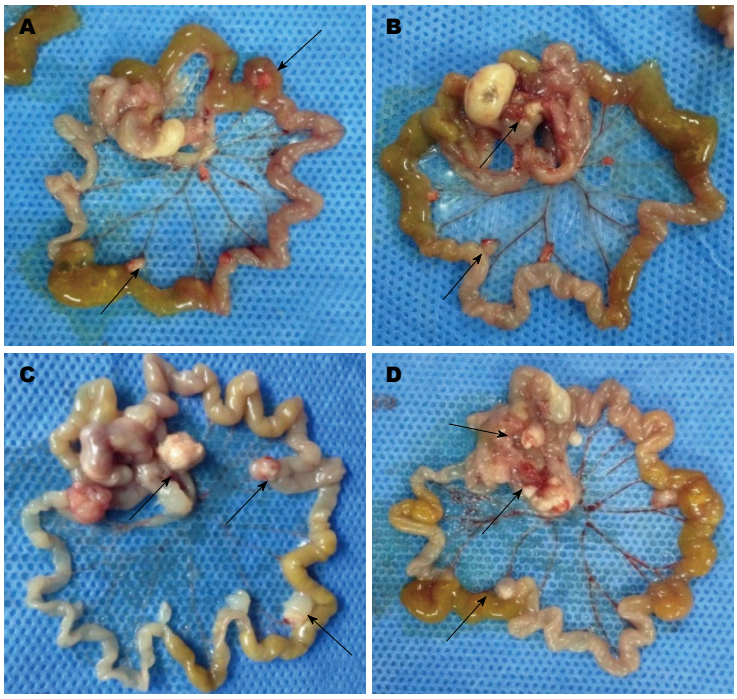


图 2 4组裸鼠腹腔内转移结节情况. A: miR495实验组肠系膜腹腔转移瘤; B: miR551a实验组肠系膜腹腔转移瘤; C: 空白对照组肠系膜腹腔转移瘤; D: 阴性对照组肠系膜腹腔转移瘤.

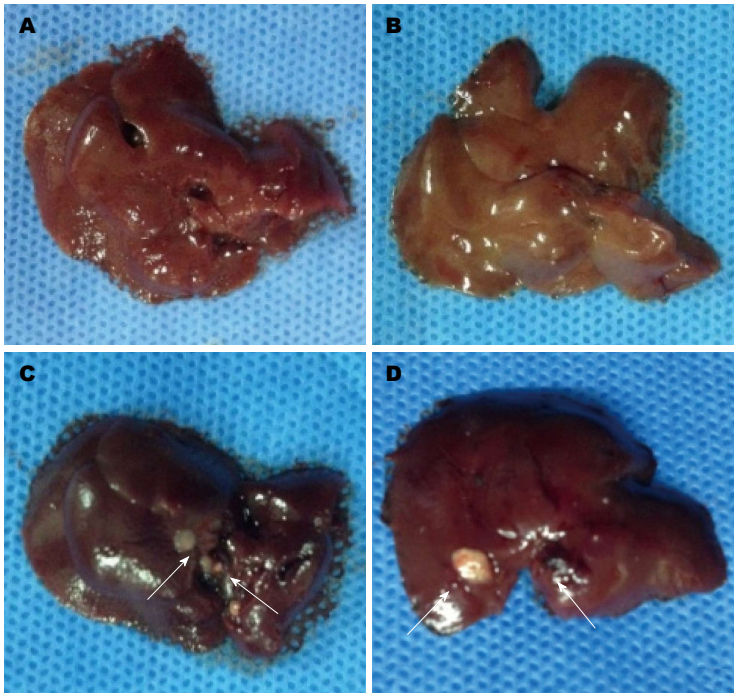


图 3 4组裸鼠肝脏转移结节情况. A: miR495实验组裸鼠肝脏; B: miR551a实验组裸鼠肝脏; C: 空白对照组裸鼠肝脏; D: 阴性对照组裸鼠肝脏.

色, 大小不一, 质地较硬. 与两对照组比较而言, 两组实验组转移结节相对较少, 体积较小, 其中两对照组肝脏均有灰白色转移结节(图2, 3). 切取部分结节HE染色可见癌细胞呈巢状或条锁状分布, 肿瘤细胞大小不一, 核大, 深染, 可见较多核分裂像(图4). 同时, 我们统计了各组腹膜转移结节的数目, 其中miR495实验组和miR551a实验组分别为28.1个±6.9个和30.3个±8.4个, 而空白对照组及阴性对照组分别为62.1个±11.9个、59.3个±9.1个. 两实验组显著少于两对照组(P<0.05)(图5).

2.3 实时荧光定量PCR结果分析 依据Ct值间的比较, 通过$2^{-\triangle\triangle Ct}$法分别计算各组送检肿瘤组织样品中miRNA及PRL-3表达变化比率. 我们发现miR495实验组送检肿瘤组织中, miR495表达量显著高于其余3组(P<0.05). miR551a实验组送检肿瘤组织中, miR551a表达量显著高于其余3组(P<0.01). miR495实验组和miR551a实验组PRL-3 mRNA表达量显著低于两对照组(P<0.01)(图6).

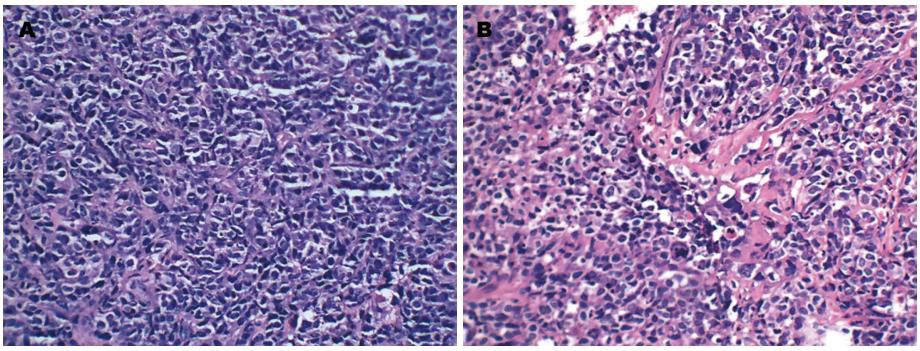


图 4 裸鼠腹腔移植瘤HE染色(×200).

■应用要点
本研究发现通过microRNA质粒靶向干扰PRL-3表达的下调, 可以抑制裸鼠腹膜转移瘤, 这为进一步探寻miRNA495、miRNA551a及PRL-3在胃癌腹膜转移中的作用机制提供了较好的实验依据, 值得进一步研究和开发, 有一定的临床应用前景.

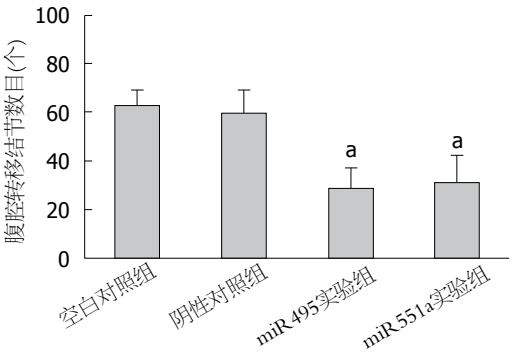


图 5 3组裸鼠腹腔内转移结节数量比较. 两实验组腹腔内转移结节数量显著低于两对照组($^aP < 0.05$ *vs* 两对照组).

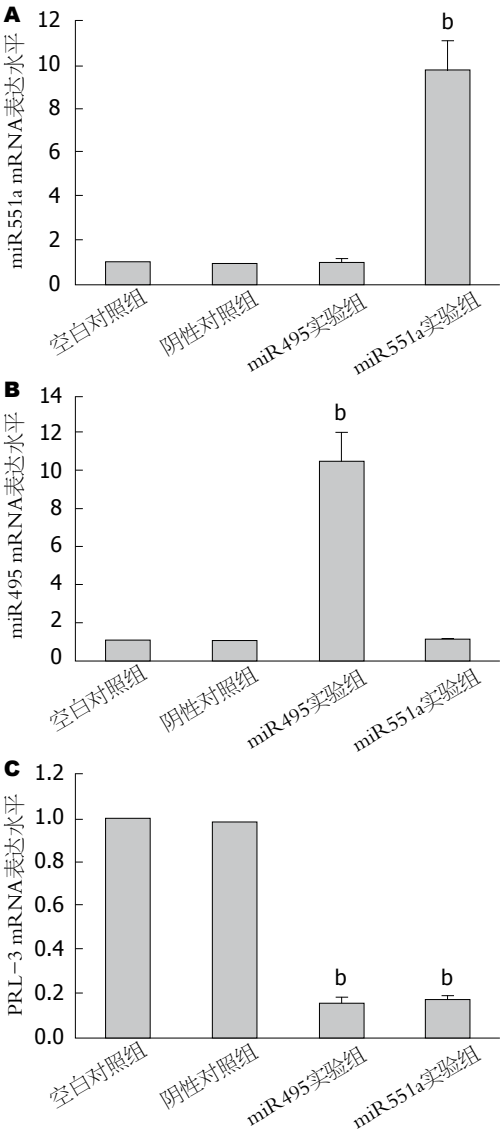


图 6 4组中miR495、miR551a、PRL-3 mRNA相对表达量的关系. A: miR495实验组送检肿瘤组织中miR495的表达量, $^bP < 0.01$ *vs* 两对照组; B: miR551a实验组送检肿瘤组织中miR551a的表达量, $^bP < 0.01$ *vs* 两对照组; C: PRL-3 mRNA的表达量, $^bP < 0.01$ *vs* 两对照组.

3 讨论

肿瘤的发生发展是一个复杂的过程, 包括癌细胞的恶性转化、增殖、侵袭、转移. 其中肿瘤细胞的侵袭和转移是癌症患者死亡的主要原因, 约90%的癌症患者死于肿瘤的转移扩散[10]. 尽管现代医学治疗胃癌以根治性手术及术后放、化疗为主, 但术后胃癌腹膜转移率仍令人堪忧. Moon等[11]调查了500例接受胃癌根治术及淋巴结清扫术的胃癌患者, 发现51.7%的患者术后5年发生胃癌腹膜转移. 此外Sakuramoto等[12]调查了530例接受高度标准化根治性胃大部切除术的胃癌患者, 发现其中15.8%的患者在术后3年内发生胃癌腹膜转移. 而患者术后一旦发生胃癌腹膜转移, 治疗手段较乏力, 且患者预后较差. 目前, 对于胃癌腹膜转移的治疗方式很多, 近年来有学者[13]采用腹腔化疗(intraperitoneal chemotherapy, IPC)及其衍生的腹腔内温热化疗(hyperthermic intraperitoneal chemotherapy, HIPEC)、低渗透压腹腔内化疗(hypotonicintraperitonealchemotherapy, HIC), 但是总体的治疗效果尚不能令人能满意. 因此在分子水平寻求胃癌腹膜转移的机制, 为诊断、治疗胃癌腹膜转移提供有力的依据已迫在眉睫.

PRL-3因其在肿瘤生长、侵袭、转移等过程中发挥重要作用而受到国内外学者的关注. 自2001年Saha等[14]发现PRL-3与结肠癌细胞的转移密切相关以来, 人们对其的研究也愈加深入, 现已有报道证实其在肠癌[15-17]、胃癌[18,19]、

■同行评价
本文应用实验动物模型及实时荧光定量PCR研究PRL-3表达的下调抑制胃癌腹膜转移的效果, 实验设计合理, 实验结果客观, 具有一定的科学意义.

肺癌[20]、乳腺癌[21]、口腔癌[22]等多种癌症中呈高表达. Miskad等[23]研究发现PRL-3高表达在胃癌患者中淋巴结转移占55.6%, 无淋巴结转移占10%, 表明PRL-3的高表达可能参与胃癌的发展和转移. Zeng等[24]在仓鼠卵巢癌细胞(Chinese hamster ovary cell, CHO)研究中, 发现高表达的PRL-3能促进CHO的迁移和侵袭能力. 这表明PRL-3在肿瘤转移中起着重要的作用. 尽管PRL-3促进肿瘤细胞转移的机制尚不完全清楚, 但其有可能成为肿瘤治疗的靶点、肿瘤临床诊断的标志物及预后评估的指标. Sun等[25]培养SGC7901细胞株, 分别并加入大黄素(15、30、45、60 μmol/L). 观测其抑制细胞生长及侵袭能力, 同时检测PRL-3的表达. 结果显示PRL-3的表达下调参与了大黄素诱导SGC-7901细胞株的增殖抑制和凋亡诱导. 可见降低PRL-3的表达可能成为治疗胃癌腹膜转移一个新的途径.

miRNA是一种调控编码基因的RNA, 通过其可以调控肿瘤基因, 在人类癌症的发生和发展中起关键作用. miRNA因其具有良好的组织特异性、在肿瘤及正常组织表达差异性, 其可能成为一个潜在的新的肿瘤标志物. Zhang等[26]发现miR-21、miR-17及miR-19a诱导*PRL-3*基因的表达促进结肠癌增殖及侵袭. 此外, Tsujiura等[27]通过对比34名胃癌患者与15名正常人血浆中miRNA的浓度, 发现胃癌患者miR-106a、miR-106b血浆浓度显著高于正常人. Zhang等[28]分析了30例胃癌患者的标本, 发现其中miR-21呈明显的高表达, 且与胃癌的分化程度呈明显的正相关. 进一步研究发现miR-21表达下调使胃癌细胞侵袭性明显下降. 可见通过miRNA表达的改变抑制肿瘤细胞转移及侵袭有望成为未来治疗胃癌腹膜转移一种新的手段.

尽管本课题组之前的体外试验研究中已证实miR495、miR551a可以调控*PRL-3*基因表达下调, 但肿瘤细胞的生长、侵袭及转移与肿瘤的微环境密不可分[29]. 因此, 建立胃癌裸鼠腹膜转移瘤模型, 进一步在体内实验中证实miR495、miR551a靶向干扰效果显得尤为重要. 裸鼠腹腔转移瘤模型是一种实用、操作简单、成瘤率高、且容易形成转移结节的实验动物模型. Ding等[30]通过腹腔注射MKN45胃癌细胞研究阿米洛利抑制胃癌细胞生长. Mori等[31]用荧光蛋白质粒转染胃癌细胞株MKN45, 随后注入Balb/c裸鼠腹腔内构建胃癌腹膜转移模型, 同时注入5-FU及抗肿瘤新药TS-1, 利用荧光显微镜观察腹膜转移瘤生长情况, 同时对比裸鼠的生存率, 以此评估新药疗效. 这一经典的动物模型已被广泛应用, 在研究胃癌转移生物学特性及机制, 新药评估等提供了理想的途径. 在此次试验中, 我们利用两组分别转染miR495、miR551a真核表达载体的SGC7901胃癌细胞成功构建了裸鼠腹腔移植瘤. 并观察了其中两实验组裸鼠一般情况、生存期及腹腔移植瘤生长情况均好于两对照组. 实时荧光定量PCR检测显示, 两实验组裸鼠miRNA表达量显著高于对照组, PRL-3 mRNA表达量低于对照组.

总之, PRL-3在胃癌细胞转移侵袭中起着重要作用, 转染靶向干扰PRL-3表达的miRNA质粒可以明显抑制PRL-3 mRNA的表达, 降低胃癌细胞体内转移侵袭能力. 这为进一步探寻miR495、miR551a及PRL-3在胃癌发生发展过程中的作用机制提供了较好的实验依据.

4 参考文献

1 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]

2 Li JK, Zheng M, Miao CW, Zhang JH, Ding GH, Wu WS. Peritoneal lavage cytology and carcinoembryonic antigen determination in predicting peritoneal metastasis and prognosis of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 7374-7377 [PMID: 16437646]

3 Saito H, Kihara K, Kuroda H, Matsunaga T, Tatebe S, Ikeguchi M. Surgical outcomes for gastric cancer patients with intraperitoneal free cancer cell, but no macroscopic peritoneal metastasis. *J Surg Oncol* 2011; 104: 534-537 [PMID: 21618248 DOI: 10.1002/jso.21983]

4 Liu X, Liu L, Xu Q, Wu P, Zuo X, Ji A. MicroRNA as a novel drug target for cancer therapy. *Expert Opin Biol Ther* 2012; 12: 573-580 [PMID: 22428844 DOI: 10.1517/14712598]

5 Miskad UA, Semba S, Kato H, Yokozaki H. Expression of PRL-3 phosphatase in human gastric carcinomas: close correlation with invasion and metastasis. *Pathobiology* 2004; 71: 176-184 [PMID: 15263806 DOI: 10.1159/000078671]

6 李正荣, 詹文华, 何裕隆, 彭俊生, 蔡世荣, 马晋平. 促肝细胞再生磷酸酶3基因在胃癌组织中的表达及其临床意义. 中华普通外科杂志 2007; 22: 130-132

7 Li ZR, Wang Z, Zhu BH, He YL, Peng JS, Cai SR, Ma JP, Zhan WH. Association of tyrosine PRL-3 phosphatase protein expression with peritoneal metastasis of gastric carcinoma and prognosis. *Surg Today* 2007; 37: 646-651 [PMID: 17643206 DOI:

10.1007/s00595-006-3437-9]
8 Li Z, Cao Y, Jie Z, Liu Y, Li Y, Li J, Zhu G, Liu Z, Tu Y, Peng G, Lee DW, Park SS. miR-495 and miR-551a inhibit the migration and invasion of human gastric cancer cells by directly interacting with PRL-3. *Cancer Lett* 2012; 323: 41-47 [PMID: 22469786 DOI: 10.1016/j.canlet.2012.03.029]
9 蒋蒙蒙, 曹毅, 李正荣, 揭志刚. miR495、miR551a靶向干扰SGC7901细胞PRL-3基因的表达. 世界华人消化杂志 2012; 20: 3361-3365
10 Christofori G. New signals from the invasive front. *Nature* 2006; 441: 444-450 [PMID: 16724056 DOI: 10.1038/nature04872]
11 Moon YW, Jeung HC, Rha SY, Yoo NC, Roh JK, Noh SH, Kim BS, Chung HC. Changing patterns of prognosticators during 15-year follow-up of advanced gastric cancer after radical gastrectomy and adjuvant chemotherapy: a 15-year follow-up study at a single korean institute. *Ann Surg Oncol* 2007; 14: 2730-2737 [PMID: 17632757 DOI: 10.1245/s10434-007-9479-4]
12 Sakuramoto S, Sasako M, Yamaguchi T, Kinoshita T, Fujii M, Nashimoto A, Furukawa H, Nakajima T, Ohashi Y, Imamura H, Higashino M, Yamamura Y, Kurita A, Arai K. Adjuvant chemotherapy for gastric cancer with S-1, an oral fluoropyrimidine. *N Engl J Med* 2007; 357: 1810-1820 [PMID: 17978289 DOI: 10.1056/NEJMoa072252]
13 Zhibing W, Qinghua D, Shenglin M, Ke Z, Kan W, Xiadong L, Pengjun Z, Ruzhen Z. Clinical study of cisplatin hyperthermic intraperitoneal perfusion chemotherapy in combination with docetaxel, 5-flourouracil and leucovorin intravenous chemotherapy for the treatment of advanced-stage gastric carcinoma. *Hepatogastroenterology* 2013 May 10. *[Epub ahead of print]* [PMID: 23598741 DOI: 10.5754/hge13038]
14 Saha S, Bardelli A, Buckhaults P, Velculescu VE, Rago C, St Croix B, Romans KE, Choti MA, Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B. A phosphatase associated with metastasis of colorectal cancer. *Science* 2001; 294: 1343-1346 [PMID: 11598267 DOI: 10.1126/science.1065817]
15 Lee SK, Han YM, Yun J, Lee CW, Shin DS, Ha YR, Kim J, Koh JS, Hong SH, Han DC, Kwon BM. Phosphatase of regenerating liver-3 promotes migration and invasion by upregulating matrix metalloproteinases-7 in human colorectal cancer cells. *Int J Cancer* 2012; 131: E190-E203 [PMID: 22131018 DOI: 10.1002/ijc.27381]
16 Tamagawa H, Oshima T, Yoshihara K, Watanabe T, Numata M, Yamamoto N, Tuschida K, Shiozawa M, Morinaga S, Akaike M, Masuda M, Imada T. The expression of the phosphatase regenerating liver 3 gene is associated with outcome in patients with colorectal cancer. *Hepatogastroenterology* 2012; 59: 2122-2126 [PMID: 22440248]
17 Kim NW, Chu CW, Ahn TS, Kim CJ, Jung DJ, Son MW, Bae SH, Lee MS, Kim CH, Baek MJ. Correlation between Liver Metastases and the Level of PRL-3 mRNA Expression in Patients with Primary Colorectal Cancer. *J Korean Soc Coloproctol* 2011; 27: 231-236 [PMID: 22102972 DOI: 10.3393/jksc.2011.27.5.231]
18 Dai N, Lu AP, Shou CC, Li JY. Expression of phosphatase regenerating liver 3 is an independent prognostic indicator for gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 1499-1505 [PMID: 19322925 DOI: 10.3748/wjg.15.1499]
19 Wang Z, He YL, Cai SR, Zhan WH, Li ZR, Zhu BH, Chen CQ, Ma JP, Chen ZX, Li W, Zhang LJ. Expression and prognostic impact of PRL-3 in lymph node metastasis of gastric cancer: its molecular mechanism was investigated using artificial microRNA interference. *Int J Cancer* 2008; 123: 1439-1447 [PMID: 18561324 DOI: 10.1002/ijc.23643]
20 Jian M, Nan L, Guocheng J, Qingfu Z, Xueshan Q, Enhua W. Downregulating PRL-3 inhibit migration and invasion of lung cancer cell via RhoA and mDia1. *Tumori* 2012; 98: 370-376 [PMID: 22825514 DOI: 10.1700/1125.12407]
21 Ustaalioglu BB, Bilici A, Barisik NO, Aliustaoglu M, Vardar FA, Yilmaz BE, Seker M, Gumus M. Clinical importance of phosphatase of regenerating liver-3 expression in breast cancer. *Clin Transl Oncol* 2012; 14: 911-922 [PMID: 22855168 DOI: 10.1007/s12094-012-0880-5]
22 Hassan NM, Hamada J, Kameyama T, Tada M, Nakagawa K, Yoshida S, Kashiwazaki H, Yamazaki Y, Suzuki Y, Sasaki A, Nagatsuka H, Inoue N, Moriuchi T. Increased expression of the PRL-3 gene in human oral squamous cell carcinoma and dysplasia tissues. *Asian Pac J Cancer Prev* 2011; 12: 947-951 [PMID: 21790231]
23 Miskad UA, Semba S, Kato H, Matsukawa Y, Kodama Y, Mizuuchi E, Maeda N, Yanagihara K, Yokozaki H. High PRL-3 expression in human gastric cancer is a marker of metastasis and grades of malignancies: an in situ hybridization study. *Virchows Arch* 2007; 450: 303-310 [PMID: 17235563 DOI: 10.1007/s00428-006-0361-8]
24 Zeng Q, Dong JM, Guo K, Li J, Tan HX, Koh V, Pallen CJ, Manser E, Hong W. PRL-3 and PRL-1 promote cell migration, invasion, and metastasis. *Cancer Res* 2003; 63: 2716-2722 [PMID: 12782572]
25 Sun ZH, Bu P. Downregulation of phosphatase of regenerating liver-3 is involved in the inhibition of proliferation and apoptosis induced by emodin in the SGC-7901 human gastric carcinoma cell line. *Exp Ther Med* 2012; 3: 1077-1081 [PMID: 22970020]
26 Zhang J, Xiao Z, Lai D, Sun J, He C, Chu Z, Ye H, Chen S, Wang J. miR-21, miR-17 and miR-19a induced by phosphatase of regenerating liver-3 promote the proliferation and metastasis of colon cancer. *Br J Cancer* 2012; 107: 352-359 [PMID: 22677902 DOI: 10.1038/bjc.2012.251]
27 Tsujiura M, Ichikawa D, Komatsu S, Shiozaki A, Takeshita H, Kosuga T, Konishi H, Morimura R, Deguchi K, Fujiwara H, Okamoto K, Otsuji E. Circulating microRNAs in plasma of patients with gastric cancers. *Br J Cancer* 2010; 102: 1174-1179 [PMID: 20234369 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605608]
28 Zhang BG, Li JF, Yu BQ, Zhu ZG, Liu BY, Yan M. microRNA-21 promotes tumor proliferation and invasion in gastric cancer by targeting PTEN. *Oncol Rep* 2012; 27: 1019-1026 [PMID: 22267008 DOI: 10.3892/or.2012.1645]
29 Jing Y, Han Z, Zhang S, Liu Y, Wei L. Epithelial-Mesenchymal Transition in tumor microenvironment. *Cell Biosci* 2011; 1: 29 [PMID: 21880137 DOI: 10.1186/2045-3701-1-29]

30 Ding Y, Zhang H, Zhou Z, Zhong M, Chen Q, Wang X, Zhu Z. u-PA inhibitor amiloride suppresses peritoneal metastasis in gastric cancer. *World J Surg Oncol* 2012; 10: 270 [PMID: 23234499 DOI: 10.1186/1477-7819-10-270]

31 Mori T, Fujiwara Y, Yano M, Tamura S, Yasuda T, Takiguchi S, Monden M. Experimental study to evaluate the usefulness of S-1 in a model of peritoneal dissemination of gastric cancer. *Gastric Cancer* 2003; 6 Suppl 1: 13-18 [PMID: 12775014]

编辑 黄新珍 电编 闫晋利

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》出版流程

本刊讯 《世界华人消化杂志》[ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569]是一份同行评议性和开放获取(open access, OA)的旬刊, 每月8、18、28号按时出版. 具体出版流程介绍如下:

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

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

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

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

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

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

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

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

《世界华人消化杂志》从收稿到发行每一步都经过严格审查, 保证每篇文章高质量出版, 是消化病学专业人士发表学术论文首选的学术期刊之一. 为保证作者研究成果及时公布, 《世界华人消化杂志》保证每篇文章四月内完成. (《世界华人消化杂志》编辑部)

世界华人消化杂志 2013年6月28日; 21(18): 1701-1707
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

抑癌基因*WWOX*与*p53*在胃癌组织中的表达及相互关系

李小华, 何利平, 罗忠金

李小华, 罗忠金, 厦门市第二医院消化内科 福建省厦门市 361021
何利平, 福建省立医院消化科 福建省福州市 350000
李小华, 主治医师, 主要从事消化系肿瘤的相关研究.
作者贡献分布: 李小华、何利平及罗忠金对此文所作贡献均等; 此课题由何利平、罗忠金及李小华共同设计完成; 研究过程由李小华操作完成; 研究所用新试剂由李小华提供; 数据分析由李小华完成; 本论文写作由李小华与罗忠金共同完成.
通讯作者: 李小华, 主治医师, 361021, 厦门市集美区盛光路566号, 福建省厦门市第二医院消化内科. janelifang@sina.com
收稿日期: 2013-04-19 修回日期: 2013-05-19
接受日期: 2013-05-25 在线出版日期: 2013-06-28

Expression of *WWOX* and *p53* in gastric cancer

Xiao-Hua Li, Li-Ping He, Zhong-Jin Luo

Xiao-Hua Li, Zhong-Jin Luo, Department of Gastroenterology, Xiamen No. 2 Hospital, Xiamen 361021, Fujian Province, China
Li-Ping He, Department of Digestive, Fujian Province Hospital, Fuzhou 350000, China
Correspondence to: Xiao-Hua Li, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Xiamen No. 2 Hospital, 566 Shengguang Road, Jimei District, Xiamen 361021, Fujian Province, China. janelifang@sina.com
Received: 2013-04-19 Revised: 2013-05-19
Accepted: 2013-05-25 Published online: 2013-06-28

Abstract

AIM: To examine the expression of WWOX and p53 proteins in gastric cancer, and to analyze the possible mechanisms behind the malignant growth of gastric cancer.

METHODS: The expression of WWOX and p53 proteins was detected by immunohistochemistry in 70 paraffin-embedded samples of gastric cancer and 20 tumor-adjacent normal tissue samples. Statistical analyses were then performed to analyze the relationship between WWOX and p53 expression and clinicopathologic parameters of gastric cancer.

RESULTS: The positive rate of expression of p53 protein in gastric cancer was significantly higher than that in normal gastric tissue (51.42% *vs* 0.00%, $P < 0.05$). Expression of p53 protein in gastric cancer was related with depth of invasion, lymph node metastasis, and tumor clinical stage (all $P < 0.05$). The positive rate of expression of WWOX protein was significantly lower in gastric cancer than in normal gastric tissue (41.43% *vs* 90.00%, $P < 0.05$). Expression of WWOX protein in gastric cancer was related with depth of invasion and clinical stage, but not with lymph node metastasis. There is a negative correlation between WWOX and p53 expression in gastric cancer.

CONCLUSION: Detection of expression of p53 protein and WWOX proteins might be useful for early diagnosis and evaluation of prognosis of gastric cancer.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; WWOX; P53; Immunohistochemistry

Li XH, He LP, Luo ZJ. Expression of *WWOX* and *p53* in gastric cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(18): 1701-1707 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1701.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i18.1701

摘要

目的: 研究抑癌基因*WWOX*与*p53*在胃癌(gastric cancer, GC)中的表达及相互关系, 探讨其在GC发生、发展中可能的机制.

方法: 随机选择手术切除的GC石蜡标本70例及相应癌旁正常组织的石蜡标本20例, 采用免疫组织化学的方法检测WWOX、p53蛋白表达. 对所得数据进行统计学分析.

结果: p53蛋白在GC中的表达率为51.42%(36/70), 癌旁正常组织的表达率为0.00%(0/20); 淋巴结转移组表达显著高于无转移组($\chi^2 = 4.79$, $P<0.05$); 晚期GC组表达高于早期GC($\chi^2 = 6.62$, $P<0.05$). WWOX蛋白在GC中的表达率为41.43%(29/70), 癌旁正常组织的表达率为90.00%(18/20); 淋巴结转移组与无转移组相比, 无统计学意义($\chi^2 = 0.29$, $P>0.05$); 晚期GC显著低于早期GC($\chi^2 = 9.36$, $P<0.05$). WWOX与p53表达呈负相关($r = -0.61$, $P<0.05$).

■背景资料
胃癌(gastric cancer, GC)为全球第4大恶性肿瘤, 从分子遗传学的角度而言, GC是一种基因病, GC的发生不仅仅是单个基因突变的结果, 而且是一个长期的分阶段的多基因突变累积的过程, 亦称为GC的基因多态性, 原癌基因的激活和/或抑癌基因的失活均可导致细胞的恶性转化. 国内外相关资料显示: 抑癌基因*WWOX*、*p53*可能在GC的发生、发展、侵袭中相互作用.

■同行评议者
刘颖斌, 主任医师, 上海交通大学医学院附属新华医院

■创新盘点
p53蛋白在GC组织中高表达; 与GC的组织分化程度、淋巴结转移、浸润深度、临床分期相关; 检测p53蛋白表达对GC的早期诊断和预后评估有十分重要的临床意义. WWOX蛋白在GC组织中低表达或表达缺失, 在癌旁正常组织中高表达; WWOX蛋白的表达与GC的组织分化程度、GC浸润深度、临床分期相关, 但与淋巴结转移无相关; 检测WWOX蛋白表达对GC的早期诊断和预后评估有十分重要的临床意义. WWOX与p53蛋白表达呈负相关, 提示WWOX与p53可能在GC发生发展中相互作用, 使GC分化差, 预后不好.

结论: p53、WWOX蛋白在GC中表达, 与浸润深度、淋巴结转移、临床分期相关, 二者在GC发生、发展中相互作用.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 胃癌; WWOX; p53; 免疫组织化学

核心提示: p53蛋白在胃癌(gastric cancer, GC)组织中高表达; WWOX蛋白在GC组织中低表达或表达缺失; WWOX与p53可能在GC发生发展中相互作用, 使GC分化差, 预后欠佳.

李小华, 何利平, 罗忠金. 抑癌基因*WWOX*与*p53*在胃癌组织中的表达及相互关系. 世界华人消化杂志 2013; 21(18): 1701-1707
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1701.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i18.1701

0 引言

胃癌(gastric cancer, GC)为全球第4大恶性肿瘤, 在癌症中的致死率位居第2位, 因其高发病率、高病死率及诊断的滞后性, GC成为威胁人类健康的主要问题. 从分子遗传学的角度而言, GC是一种基因病. GC的发生不仅仅是单个基因突变的结果, 而且是一个长期的分阶段的多基因突变累积的过程. 环境的和遗传的致癌因素引起细胞遗传物质(DNA)改变的主要靶基因是原癌基因和抑癌基因, 原癌基因的激活和或抑癌基因的失活均可导致细胞的恶性转化. *WWOX*、*p53*同为抑癌基因, 且*WWOX*抑制肿瘤生长和诱导细胞凋亡的过程与*p53*相关, 故*WWOX*、*p53*基因中任何一者的表达降低、升高或*p53*基因的突变都可能成为影响GC发生、发展及转移的重要因素. 目前, 国内外将这两个基因放在一起, 研究他们在GC中的表达及相互关系的资料少见.

本研究致力于探讨抑癌基因*WWOX*、*p53*在各种类型GC组织中的表达情况及其相互关系, 以期寻求GC特异、敏感的生物学标志物甚或靶向治疗靶点, 为GC的早期诊断、早期治疗提供更多的思路.

1 材料和方法

1.1 材料 随机选取2007-01/2010-06于厦门市第二医院普外科行根治手术切除的70例GC患者的石蜡标本, 包括GC组织70例, 其中, 男41例, 女29例, 平均年龄62.3岁, 及与GC组织相对应的癌旁正常组织20例, 所有病例术前均未行化疗及放疗, 术后均经病理证实. 纳入标准: (1)首次发病的患者; (2)原发GC患者; (3)术前未接受放疗及化疗的患者; (4)石蜡标本可取用的患者. 排除标准: (1)术前接受化疗或放疗的患者; (2)合并其他恶性疾病的患者. WWOX兔抗人多克隆抗体(ab33248), 购自美国Abcom公司; p53鼠抗人单克隆抗体(MAB-0142), 购自福州迈新生物科技有限公司.

1.2 方法 运用免疫组织化学(Elivison二步法)检测*WWOX*、*p53*二种基因在GC组织及其癌旁组织的表达. 各步骤时间在每个批次实验中保持一致, 设置阴性阳性对照. 以已知阳性表达的切片作为阳性对照. 以PBS代替一抗作为阴性对照. 由两位主治以上的病理科医师双盲法观察切片判断蛋白的表达结果.

统计学处理 对所得数据进行四格表、行×列表χ^2检验及Sperman秩相关分析, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 p53蛋白在GC中的表达 p53蛋白表达于癌细胞腺体细胞核, 呈黄至棕褐色颗粒分布.

2.2 p53蛋白在GC组织及对照组中的表达 癌旁正常组织中p53蛋白阳性表达0.00%(0/20); GC p53蛋白表达阳性率51.43%(36/70), 与癌旁正常组织相比, 差异有统计学意义($\chi^2 = 17.12$, $P<0.05$)(表1, 图1).

2.3 p53蛋白的表达与GC各临床病理学特征之间的关系 GC p53蛋白阳性表达率差异与年龄($\chi^2 = 0.18$, $P>0.05$)、性别($\chi^2 = 0.01$, $P>0.05$)、肿瘤大小($\chi^2 = 0.23$, $P>0.05$)、肉眼形态($\chi^2 = 1.12$, $P>0.05$)无关, 差异无统计学意义; 与GC浸润深度($\chi^2 = 11.97$, $P<0.05$)、淋巴结转移($\chi^2 = 4.79$, $P<0.05$)、临床分期($\chi^2 = 6.62$, $P<0.05$)相关, 差异有统计学意义(表2).

2.4 WWOX蛋白在GC中的表达 WWOX蛋白表达于腺体细胞浆, 呈黄色颗粒分布.

2.5 WWOX蛋白在GC组织及对照组中的表达 无论GC组织还是对照组织, WWOX蛋白的阳性颗粒均主要分布于腺体的细胞浆. GC组织中WWOX蛋白阳性表达率41.43%(29/70), 癌旁正常组织中WWOX蛋白阳性表达率90.00%(18/20), 两者相比, 差异有统计学意义($\chi^2 = 14.71$, $P<0.05$)(表3, 图2).

2.6 WWOX蛋白的表达与GC各临床病理学特征之间的关系 GC WWOX蛋白阳性表达率差

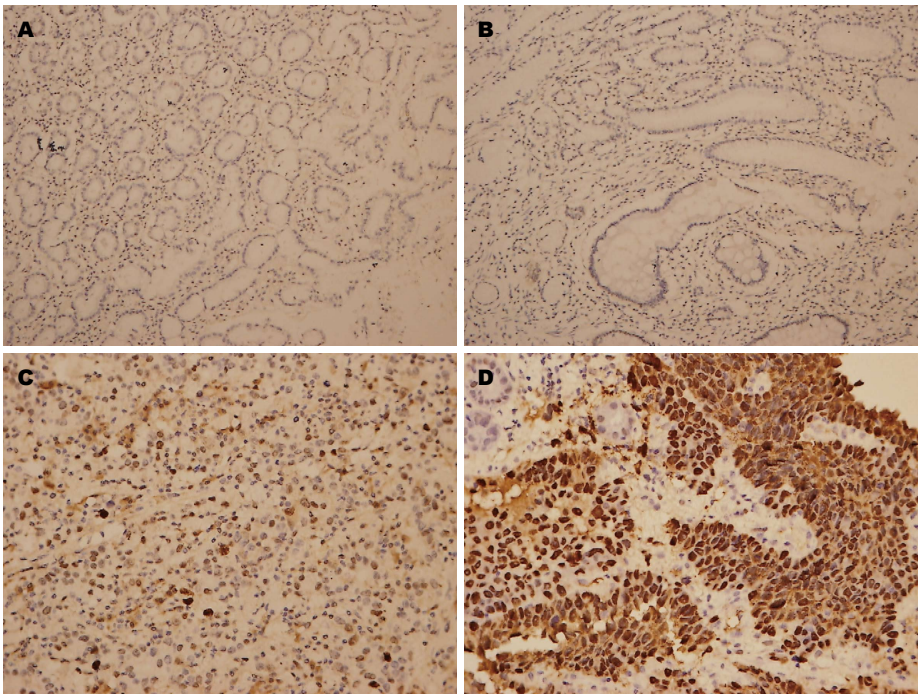


图 1 p53在胃腺癌组织的表达. A: 胃癌旁正常组织中阴性表达(HE × 200); B: 中分化型胃腺癌组织中弱阳性表达(HE × 200); C: 低分化型胃腺癌组织中强阳性表达(HE × 400); D: 未分化型胃癌组织中强阳性表达(HE × 400).

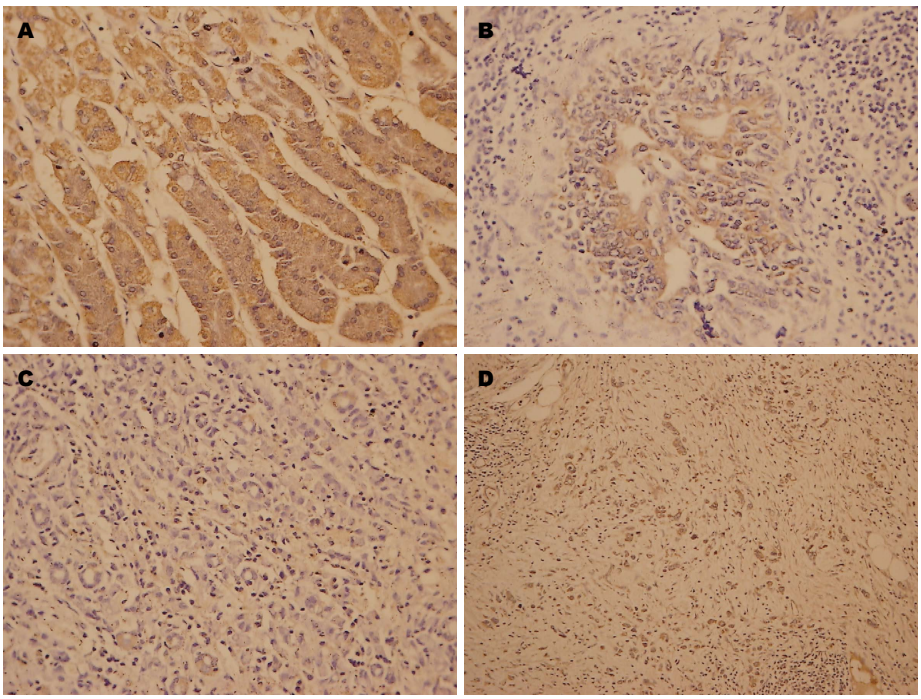


图 2 WWOX在胃腺癌组织的表达. A: 胃癌旁正常组织中强阳性表达(HE × 400); B: 中分化型胃管状腺癌中阳表达(HE × 200); C: 低分化型胃腺癌弱阳性表达(HE × 200); D: 未分化型胃癌组织中弱阳性表达(HE × 200).

■应用要点

本研究发现*WWOX*与*p53*基因的表达呈负相关, 说明p53与WWOX在GC发生发展过程中可能存在协同作用, 但二者的共同作用机制如何, 在肿瘤发生发展的哪个阶段作用, 需要我们扩大标本量, 采用Western blot、免疫共沉淀等方法在基因突变等方面做进一步研究, 才能揭示其中的奥秘. 在治疗方面, 针对*p53*的基因治疗药物已在临床上得到应用, 但针对WWOX的基因治疗药物目前研究甚少, p53与WWOX状态的改变对化疗敏感性影响的报道也鲜见, 我们有必要进一步研究联合检测*p53*与*WWOX*相关基因在GC方面的靶向治疗及个体化治疗.

异与年龄(χ^2 = 0.62, *P*>0.05)、性别(χ^2 = 0.24, *P*>0.05)、肉眼形态 (χ^2 = 2.38, *P*>0.05)、肿瘤大小(χ^2 = 0.17, *P*>0.05)、淋巴结转移(χ^2 = 0.29, *P*>0.05)无关, 差异无统计学意义; 与浸润深度(χ^2 = 6.69, *P*<0.05)、临床分期(χ^2 = 9.36, *P*<0.05)相关, 差异有统计学意义(表4).

2.7 GC组织中WWOX与p53(突变型)表达的相关性 WWOX和p53共同阳性表达率为28.57%(20/70), WWOX和p53共同阴性表达率为35.71%(25/70), WWOX+/p53表达率为12.86%(9/70), WWOX-/p53+表达率为22.86%(16/70), 经Sperman秩相关分析, χ^2 = 6.10, *P*<0.05, 有统计学意义, 认为两者在GC中的表达相关, 结合相关系数*r* = -0.61, 认为两者在GC中的表达呈负相关(表5).

3 讨论

3.1 *p53*基因和GC 1979年, Lane等[1,2]运用SV40抗T抗体的联合免疫沉淀法, 在SV40转化细胞提取物中发现了与T抗原同时存在的一种特殊的蛋白质, 因分子质量为53 ku, 故将其命名为p53. p53蛋白存在两种形态: 野生型(wtp53)和突变型

■同行评价
本文设计合理科学，结论可信，具有一定指导意义.

表 1 p53在胃癌组织与癌旁正常组织中的表达

分组	*n*	p53表达情况				阳性率(%)	χ^2值	*P*值
		–	+	++	+++			
							17.12	<0.005
胃癌	70	34	4	12	20	51.43		
胃癌旁正常组织	20	20	0	0	0	0		

阳性表达包括+、++、+++.

表 2 不同临床病理学特征胃癌组织p53的表达

临床病理学特征	*n*	p53表达情况				阳性率(%)	χ^2值	*P*值
		–	+	++	+++			
年龄(岁)							0.18	0.500<*P*<0.750
<59	23	12	1	5	5	47.83		
≥59	47	22	3	7	15	53.19		
性别							0.01	> 0.900
男	41	19	3	6	13	53.66		
女	29	15	1	6	7	48.28		
肉眼形态							1.12	0.500<*P*<0.750
浸润型	25	18	2	1	4	28		
隆起型	13	5	1	6	1	61.54		
溃疡型	32	11	1	5	15	65.63		
肿瘤大小\(cm)							0.23	0.500<*P*<0.750
<4	43	29	1	4	9	32.56		
≥4	27	5	3	8	11	81.48		
浸润深度							11.97	<0.005
T1–2	4	4	0	0	0	0		
T3	16	12	2	1	1	25		
T4	50	18	2	11	19	64		
淋巴结转移							4.79	0.025<*P*<0.050
无	24	16	4	2	2	33.33		
有	46	18	0	10	18	60.87		
TNM分期							6.62	0.025<*P*<0.050
Ⅰ–Ⅱ期	17	12	2	2	1	29.41		
Ⅲ期	32	16	1	7	8	50		
Ⅳ期	21	6	1	3	11	71.43		

阳性表达包括+、++、+++.

(mtp53). 目前证实, wtp53蛋白的功能是诱导细胞凋亡. 相反, mtp53在细胞内累积则可抑制细胞凋亡, 促进细胞转化和增殖, 导致肿瘤细胞发生.

p53蛋白阳性反应物均聚集在癌变细胞核内, 相应正常黏膜上皮细胞核内未见阳性表达, 这与国内外文献报告相一致[3-8]. 实验组GC p53蛋白表达率高(51.42%), 对照组癌旁正常组织p53蛋白表达缺失(0.00%). 实验组p53蛋白表达阳性率与其对照组相比, 差异具有统计学意义(*P*<0.05), 说明抑癌基因*p53*参与了GC的发生、发展. GC组织p53蛋白表达的阳性率虽高, 并不是所有GC组织均有p53蛋白表达, 可能原因为: 部分突变型*p53*基因失去合成蛋白的能力; 肿瘤的发生具有基因多态性, GC也不例外. 本研究GC p53蛋白阳性表达率高于国内外文献报道的水平, 不排除与区域性致癌因素相关.

Barnes等[9]与Duman等[10]发现: 乳腺浸润性导管癌p53蛋白阳性表达率明显高于乳腺导管内癌. Giatromanolaki等、Yuan等及Bonnefoi等[11-13]发现

表 3 WWOX在胃癌组织与癌旁正常组织中的表达

分组	*n*	WWOX表达情况				阳性率(%)	χ^2值	*P*值
		–	+	++	+++			
							14.71	<0.005
胃癌	70	41	13	8	8	41.43		
胃癌旁正常组织	20	2	1	4	13	90.00		

阳性表达包括+、++、+++.

表 4 不同临床病理学特征胃癌组织WWOX的表达

临床病理学特征	*n*	WWOX表达情况				阳性率(%)	χ^2值	*P*值
		–	+	++	+++			
年龄(岁)							0.62	0.250<*P*<0.500
<59	23	15	5	2	1	34.78		
≥59	47	26	8	8	5	44.68		
性别							0.24	0.500<*P*<0.750
男	41	25	6	7	3	39.02		
女	29	16	7	3	3	44.83		
肉眼形态							2.38	0.250<*P*<0.500
浸润型	25	13	6	2	4	48.00		
隆起型	13	10	3	0	0	23.08		
溃疡型	32	18	4	8	2	43.75		
肿瘤大小(cm)							0.17	0.500<*P*<0.750
<4	43	26	11	5	1	39.53		
≥4	27	15	2	5	5	44.44		
浸润深度							6.69	0.025<*P*<0.050
T1–2	1	1	0	2	1	75.00		
T3	16	6	3	2	5	62.50		
T4	50	34	10	6	0	32.00		
淋巴结转移							0.29	0.500<*P*<0.750
无	24	13	2	4	5	45.83		
有	46	28	11	6	1	39.13		
TNM分期							9.36	0.005<*P*<0.010
Ⅰ–Ⅱ期	17	7	4	4	2	58.82		
Ⅲ期	32	16	7	5	1	50.00		
Ⅳ期	21	18	2	1	0	14.28		

阳性表达包括+、++、+++.

大结节晚期肝癌表达率明显高于小结节早期肝癌. 本研究发现: p53蛋白的阳性表达率随着GC浸润程度的增加而增加, 即浸润达肌层(25.00%)及浆膜以外(64.00%)的晚期GC远高于浸润仅达黏膜层或黏膜下层(0.00%)的早期GC, 差异具有统计学意义(P<0.05), 提示GC p53蛋白的表达率高低可辅助判断肿瘤浸润性生长的情况. GC淋巴结转移组p53蛋白阳性表达率(60.9%)明显高于无转移组(33.3%), 差异具有统计学意义(P<0.05). 这与Martin等[14]及Choi等[15]报告的结果相一致, 提示p53蛋白阳性的GC细胞更容易发生淋巴结转移, 生存期短. GCTNM Ⅰ-Ⅱ、TNM Ⅲ、TNM Ⅳ期p53蛋白的阳性表达率分别为29.41%、50.00%、71.43%, 差异具有统计学意义(P<0.05), 提示p53蛋白的阳性表达率越高, 临床分期越晚. 本研究还发现p53蛋白的过表达与GC患者的年龄、性别、肿瘤大小无关.

总之, p53蛋白参与了GC的发生、分化、浸润、转移等过程. GC患者p53阳性者明显存在组织分化差、淋巴结转移率高、临床分期晚、预

表 5 Sperman秩相关分析*WWOX*与*p53*基因表达的相关性

WWOX	*p53*		合计
	–	+	
–	25	16	41
+	9	20	29
合计	34	36	70

阳性表达包括+、++、+++.

后差的现象, 可作为GC早期诊断、早期治疗及估计预后的指标之一.

3.2 *WWOX*基因和GC 2000年, Bednarek等与Chen等[16-18]应用鸟枪基因测序技术, 通过对感兴趣区域的转录子进行分离分析, 鉴别出一种新的抑癌基因, 即含有WW结构域的*WWOX*. WWOX蛋白含有414个氨基酸, 是一种促凋亡蛋白, 参与了多种信号转导途径[19-27]: 增强TNF介导的细胞毒性, 与TNF凋亡途径中的TRADD和TRAF2作用; 与IkBa、p53凋亡途径中的p53作用等.

Aqeilan等[28]在81例胃腺癌样本中发现: 31%的病例存在WWOX杂合子丢失, 65%的原发胃腺癌标本和33%的GC细胞株中WWOX蛋白表达缺失, 显示在GC发生中可能有*WWOX*基因突变事件. 同文献报道, 本研究检测出WWOX蛋白表达于部分癌病及正常腺体细胞浆, 实验组GC WWOX蛋白阳性表达率为41.43%, 对照组癌旁正常组织WWOX表达90.00%, 实验组WWOX蛋白表达阳性率与其对照组相比, 差异具有统计学意义($P<0.05$), 提示抑癌基因*WWOX*参与了GC的发生、发展.

胡浩等与李帅等[29,30]运用RT-PCR法测WWOX mRNA在GC组织中的表达, 得出结论WWOX表达与GC淋巴结和远处转移无关($P>0.05$). 本研究运用免疫组织化学的方法发现: GC淋巴结转移组WWOX蛋白阳性表达率为45.83%, GC无淋巴结转移组的WWOX蛋白阳性表达率为39.13%, 差异无统计学意义($P>0.05$), 和胡浩等[29,30]的研究结果相同, 支持WWOX蛋白表达与GC淋巴结是否转移无关.

本研究发现, GC细胞浸润仅达黏膜层或黏膜下层者WWOX蛋白的阳性表达率为75.00%, 癌细胞浸润仅达肌层者WWOX蛋白的阳性表达率62.50%, 癌细胞浸润达浆膜以外者WWOX蛋白的阳性表达率为32.00%, 差异具有统计学意义($P<0.05$), 提示WWOX参与了GC的浸润, 浸润程度越深, WWOX蛋白的阳性表达率越低. GC TNM Ⅰ-Ⅱ、TNM Ⅲ、TNM Ⅳ期WWOX蛋白的阳性表达率分别为58.82%、50.00%、14.28%, 差异具有统计学意义($P<0.05$), 提示WWOX蛋白的表达与GC的临床分期明显相关.

总之, WWOX蛋白可能参与了GC的发生、分化、浸润等过程, 可作为GC早期诊断、及预后评估的指标之一.

3.3 *WWOX*、*p53*与GC 目前, 国内外部分研究表明*WWOX*与*p53*同为抑癌基因, 且*WWOX*抑制肿瘤生长和诱导细胞凋亡的过程与*p53*基因相关. 本研究发现*WWOX*与*p53*基因的表达呈负相关, 说明*p53*与*WWOX*在GC发生发展过程中可能存在协同作用, 但二者的共同作用机制如何, 在肿瘤发生发展的哪个阶段作用, 需要我们扩大标本量, 采用Western blot、免疫共沉淀等方法在基因突变等方面做进一步研究, 才能揭示其中的奥秘. 在治疗方面, 针对*p53*的基因治疗药物已在临床上得到应用, 但针对*WWOX*的基因治疗药物目前研究甚少, p53与WWOX状态的改变对化疗敏感性影响的报道也鲜见, 我们有必要进一步研究联合检测p53与WWOX相关基因在GC方面的靶向治疗及个体化治疗.

4 参考文献

1 Lane DP, Crawford LV. T antigen is bound to a host protein in SV40-transformed cells. *Nature* 1979; 278: 261-263 [PMID: 218111 DOI: 10.1038/278261a0]

2 Lane DP, Crawford LV. The complex between simian virus 40 T antigen and a specific host protein. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 1980; 210: 451-463 [PMID: 6109305 DOI: 10.1098/rspb.1980.0146]

3 孙春兰, 金海玲, 君宗柱, 申忠健. 人胃癌和癌前病变组织中P53的表达及其亚细胞定位. 延边医学院学报 1994; 17: 157-162

4 Iggo R, Gatter K, Bartek J, Lane D, Harris AL. Increased expression of mutant forms of p53 oncogene in primary lung cancer. *Lancet* 1990; 335: 675-679 [PMID: 1969059 DOI: 10.1016/0140-6736(90)90801-B]

5 Ishida S, Yamashita T, Nakaya U, Tokino T. Adenovirus-mediated transfer of p53-related genes induces apoptosis of human cancer cells. *Jpn J Cancer Res* 2000; 91: 174-180 [PMID: 10761704 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2000.tb00929.x]

6 Escher A, Piotet E, Waridel F, Iggo R, Monnier P. p53 Mutation in histologically normal mucosa of the aero-digestive tract is not a marker of increased risk for second primary carcinoma in head and neck cancer patients. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2009; 266: 547-551 [PMID: 18688630 DOI: 10.1007/s00405-008-0780-z]

7 Kaeser MD, Pebernard S, Iggo RD. Regulation of p53 stability and function in HCT116 colon cancer cells. *J Biol Chem* 2004; 279: 7598-7605 [PMID: 14665630 DOI: 10.1074/jbc.M311732200]

8 Meinhold-Heerlein I, Ninci E, Ikenberg H, Brandstetter T, Ihling C, Schwenk I, Straub A, Schmitt B, Bettendorf H, Iggo R, Bauknecht T. Evaluation of methods to detect p53 mutations in ovarian cancer. *Oncology* 2001; 60: 176-188 [PMID: 11244334 DOI: 10.1159/000055316]

9 Barnes DM, Dublin EA, Fisher CJ, Levison DA, Millis RR. Immunohistochemical detection of p53 protein in mammary carcinoma: an important new independent indicator of prognosis? *Hum Pathol* 1993; 24: 469-476 [PMID: 7684021 DOI: 10.1016/0046-8177(93)90158-D]

10 Duman BB, Sahin B, Acikalin A, Ergin M, Zorludemir S. PTEN, Akt, MAPK, p53 and p95 expression to predict trastuzumab resistance in HER2 positive breast cancer. *J BUON* 2013; 18: 44-50 [PMID: 23613387]

11 Giatromanolaki A, Koukourakis MI, Stathopoulos GP, Kapsoritakis A, Paspatis G, Kakolyris S, Sivridis E, Georgoulias V, Harris AL, Gatter KC. Angiogenic interactions of vascular endothelial growth factor, of thymidine phosphorylase, and of p53 protein expression in locally advanced gastric cancer. *Oncol Res* 2000; 12: 33-41 [PMID: 11061344]

12 Yuan RH, Jeng YM, Hu RH, Lai PL, Lee PH, Cheng CC, Hsu HC. Role of p53 and β-catenin mutations in conjunction with CK19 expression on early tumor recurrence and prognosis of hepatocellular carcinoma. *J Gastrointest Surg* 2011; 15: 321-329 [PMID: 21061181 DOI: 10.1007/s11605-010-1373-x]

13 Bonnefoi H, Ducraux A, Movarekhi S, Pelte MF, Bongard S, Lurati E, Iggo R. p53 as a potential predictive factor of response to chemotherapy: feasibility of p53 assessment using a functional test in yeast from trucut biopsies in breast cancer patients. *Br J Cancer* 2002; 86: 750-755 [PMID: 11875738 DOI: 10.1038/sj.bjc.6600105]

14 Martin HM, Filipe MI, Morris RW, Lane DP, Silvestre F. p53 expression and prognosis in gastric carcinoma. *Int J Cancer* 1992; 50: 859-862 [PMID: 1555884 DOI: 10.1002/ijc.2910500604]

15 Choi SW, Park WS, Yang JM, Kang CS, Sun HS, Kim BS, Seo EJ, Lee MJ, Park CS. p53 protein overexpression and allele loss of p53 gene in gastric adenocarcinoma. *J Korean Med Sci* 1994; 9: 299-303 [PMID: 7848577]

16 Bednarek AK, Laflin KJ, Daniel RL, Liao Q, Hawkins KA, Aldaz CM. WWOX, a novel WW domain-containing protein mapping to human chromosome 16q23.3-24.1, a region frequently affected in breast cancer. *Cancer Res* 2000; 60: 2140-2145 [PMID: 10786676]

17 Bednarek AK, Keck-Waggoner CL, Daniel RL, Laflin KJ, Bergsagel PL, Kiguchi K, Brenner AJ, Aldaz CM. WWOX, the FRA16D gene, behaves as a suppressor of tumor growth. *Cancer Res* 2001; 61: 8068-8073 [PMID: 11719429]

18 Chen X, Li P, Yang Z, Mo WN. Expression of fragile histidine triad (FHIT) and WW-domain oxidoreductase gene (WWOX) in nasopharyngeal carcinoma. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013; 14: 165-171 [PMID: 23534718]

19 Chang NS, Doherty J, Ensign A, Lewis J, Heath J, Schultz L, Chen ST, Oppermann U. Molecular mechanisms underlying WOX1 activation during apoptotic and stress responses. *Biochem Pharmacol* 2003; 66: 1347-1354 [PMID: 14555208 DOI: 10.1016/S0006-2952(03)00484-2]

20 Chang NS, Pratt N, Heath J, Schultz L, Sleve D, Carey GB, Zevotek N. Hyaluronidase induction of a WW domain-containing oxidoreductase that enhances tumor necrosis factor cytotoxicity. *J Biol Chem* 2001; 276: 3361-3370 [PMID: 11058590 DOI: 10.1074/jbc.M007140200]

21 Chang NS. The non-ankyrin C terminus of Ikappa Balpha physically interacts with p53 in vivo and dissociates in response to apoptotic stress, hypoxia, DNA damage, and transforming growth factor-beta 1-mediated growth suppression. *J Biol Chem* 2002; 277: 10323-10331 [PMID: 11799106 DOI: 10.1074/jbc.M106607200]

22 Chang NS, Doherty J, Ensign A. JNK1 physically interacts with WW domain-containing oxidoreductase (WOX1) and inhibits WOX1-mediated apoptosis. *J Biol Chem* 2003; 278: 9195-9202 [PMID: 12514174 DOI: 10.1074/jbc.M208373200]

23 Wu D, Wu S. A conserved serine residue regulates the stability of Drosophila Salvador and human WW domain-containing adaptor 45 through proteasomal degradation. *Biochem Biophys Res Commun* 2013; 433: 538-541 [PMID: 23524264 DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.03.023]

24 Abdeen SK, Salah Z, Khawaled S, Aqeilan RI. Characterization of WWOX inactivation in murine mammary gland development. *J Cell Physiol* 2012; Dec 18. *[Epub ahead of print]* [PMID: 23254778 DOI: 10.1002/jcp.24310]

25 Li YP, Wu CC, Chen WT, Huang YC, Chai CY. The expression and significance of WWOX and β-catenin in hepatocellular carcinoma. *APMIS* 2013; 121: 120-126 [PMID: 23030478 DOI: 10.1111/j.1600-0463.2012.02947.x]

26 Sudol M, McDonald CB, Farooq A. Molecular insights into the WW domain of the Golabi-Ito-Hall syndrome protein PQBP1. *FEBS Lett* 2012; 586: 2795-2799 [PMID: 22710169 DOI: 10.1016/j.febslet.2012.03.041]

27 Qin J, Barajas D, Nagy PD. An inhibitory function of WW domain-containing host proteins in RNA virus replication. *Virology* 2012; 426: 106-119 [PMID: 22341780 DOI: 10.1016/j.virol.2012.01.020]

28 Aqeilan RI, Pekarsky Y, Herrero JJ, Palamarchuk A, Letofsky J, Druck T, Trapasso F, Han SY, Melino G, Huebner K, Croce CM. Functional association between Wwox tumor suppressor protein and p73, a p53 homolog. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 4401-4406 [PMID: 15070730 DOI: 10.1073/pnas.0400805101]

29 胡浩, 赵荣飞, 曹苇. 抑癌基因WWOX在胃癌中的表达及其临床意义. 中国肿瘤外科杂志 2009; 1: 337-339

30 李帅, 邓跃华, 王从玉, 刘戈. WWOX与c-jun在胃癌中表达及其临床意义. 安徽医科大学学报 2012; 47: 45-48

编辑 田滢 电编 闫晋利

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2013年6月28日; 21(18): 1708-1713
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

中医药防治非酒精性脂肪肝病的研究进展

隋晓丹, 邓厚波, 刘铁军

■背景资料
非酒精性脂肪肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)是21世纪全球重要的公共健康问题之一, 亦是我国愈来愈重视的慢性肝病问题. 现有西药疗效单一, 存在不同毒性和不良反应. 中医药防治NAFLD优势日益突出.

隋晓丹, 邓厚波, 刘铁军, 长春中医药大学附属医院肝脾胃病科 吉林省长春市 130021
隋晓丹, 主要从事消化系统疾病的相关研究.
作者贡献分布: 本文综述由隋晓丹与邓厚波完成; 刘铁军负责审校指导.
通讯作者: 刘铁军, 教授, 130021, 吉林省长春市工农大路1478号, 长春中医药大学附属医院肝脾胃病科. liutiejun699@163.com
收稿日期: 2013-03-28 修回日期: 2013-04-22
接受日期: 2013-05-19 在线出版日期: 2013-06-28

Prevention and treatment of nonalcoholic fatty liver disease by traditional Chinese medicine

Xiao-Dan Sui, Hou-Bo Deng, Tie-Jun Liu

Xiao-Dan Sui, Hou-Bo Deng, Tie-Jun Liu, Affiliated Hospital of Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130021, Jilin Province, China
Correspondence to: Tie-Jun Liu, Professor, Affiliated Hospital of Changchun University of Chinese Medicine, 1478 Gongnong Dalu, Changchun 130021, Jilin Province, China. liutiejun699@163.com
Received: 2013-03-28 Revised: 2013-04-22
Accepted: 2013-05-19 Published online: 2013-06-28

Abstract
Nonalcoholic fatty liver disease is a disorder that develops in patients with no history of heavy drinking or daily alcohol intake < 20 g and is characterized by fatty degeneration in liver parenchymal cells and adipose accumulation. Western drugs for nonalcoholic fatty liver disease are often associated with unsatisfactory curative effect and significant toxicity or adverse reactions. Numerous pharmacological studies have demonstrated that many single or compound preparations of Chinese medicine can achieve satisfactory curative effect and possess unique advantages in prevention and treatment of nonalcoholic fatty liver disease.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Nonalcoholic fatty liver disease; Traditional Chinese medicine

Sui XD, Deng HB, Liu TJ. Prevention and treatment of nonalcoholic fatty liver disease by traditional Chinese medicine. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(18): 1708-1713 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1708.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i18.1708

摘要
非酒精性脂肪肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)是一种无过量饮酒史, 或每日酒精摄入量<20 g, 以肝脏实质细胞脂肪变性及脂肪蓄积为主要特征的临床病理综合征. 现有西药疗效单一, 存在不同毒性和不良反应. 中医药防治NAFLD研究日益深入, 大量实验药理研究及临床疗效观察证实, 很多单味中药及中药复方疗效显著, 治疗机制逐渐清晰, 中医药在防治NAFLD方面有良好疗效和独特的优势, 并展现出广阔的发展前景.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 非酒精性脂肪性肝病; 中药

核心提示: 随着非酒精性脂肪肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)发病率日渐上升, 各国专家学者对本病的防治研究的不断深入. 大量实验药理研究及临床疗效观察证实, 中医药在防治NAFLD方面有良好疗效和独特的优势, 并展现出广阔的发展前景.

隋晓丹, 邓厚波, 刘铁军. 中医药防治非酒精性脂肪肝病的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(18): 1708-1713 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1708.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i18.1708

0 引言
随着非酒精性脂肪肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)发病率日渐上升, 各国专家学者对本病的防治研究也不断深入. 现有西药疗效单一, 存在不同毒性和不良反应, 而大量实验药理研究及临床疗效观察证实, 中医药在防治NAFLD方面有良好疗效和独特的优势, 并展现出广阔的发展前景.

1 中药单味药研究
丹参: 郭建利等[1]实验表明丹参的不同组分总酮

■同行评议者
刘长征, 副教授, 中国医学科学院基础医学研究所

和总酚酸均能通过促进脂质代谢及抗脂质过氧化作用达到治疗NAFLD的作用. 而总体疗效上丹参总酚酸优于丹参总酮. 路帅等[2]实验证实丹参能显著降低NAFLD大鼠血脂、转氨酶, 并降低肝组织中总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)的含量或活性, 升高肝组织中过氧化物歧化酶(superoxide dimutase, SOD)的活性, 改善肝脏组织脂变性程度.

木贼: 姜秀娟等[3]实验表明木贼水煎剂可以通过抑制肝细胞凋亡, 改善肝细胞损伤而起到治疗NAFLD的作用.

乌药: 曹宁等[4]实验证实乌药提取物乌药叶总黄酮对NAFLD有良好治疗作用, 主要机制可能与其能改善肝细胞脂肪变性, 降低血脂有关.

余甘子: 朱炜等[5]通过研究证实余甘子能够有效的抑制NAFLD形成过程中炎症因子的表达, 还能够改善肝脏的损伤和纤维化水平.

玉郎伞: 陈丽等[6]实验表明玉郎伞提取物对NAFLD大鼠肝脏损伤有较好的修复作用, 并能明显减轻肝脏脂肪变性及炎症坏死程度.

姜黄: 周玲玲等[7]实验证实姜黄素能显著降低NAFLD家兔血清TG、TC、低密度脂蛋白(low density lipoprotein-cholesterol, LDL-C)水平, 改善胰岛素抵抗, 并显著升高PPAR-γ蛋白表达, 而降低肝脏脂质合成及聚积, 达到对NAFLD的治疗作用. 赵志光等[8]实验表明姜黄素能明显抑制NAFLD家兔肝组织肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor-α, TNF-α)表达, 从而有效改善肝脏炎症活动及纤维化程度.

黄皮叶: 张荣等[9]实验表明黄皮叶能有效改善NAFLD肝组织能量代谢障碍, 从而保护肝功能, 作用机制可能与提升NAFLD大鼠肝组织三磷酸腺苷、二磷酸腺苷的含量有关.

枳椇子: 徐晶莹等[10]实验证实枳椇子能显著降低NAFLD大鼠血清TNF-α、白介素(interleukin, IL)-6、IL-8水平, 这可能是其防治NAFLD进展的重要机制之一.

沙棘: 李迎春等[11]临床观察沙棘治疗NAFLD44例, 3 mo后患者血脂、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)和肝脾CT比值水平明显改善, 亦不会导致肾功能和血糖代谢异常. 沙棘降低血脂, 改善TG在肝脏的蓄积、肝脏微循环, 并减轻肝纤维化的作用可能是其防治NAFLD的机制之一.

2 中药复方研究

很多医家结合临床辨证制定方剂, 通过实验药理研究及临床疗效观察证实许多中药复方对NAFLD均有良好疗效.

2.1 实验研究 丹茼软胶囊: 由丹参和茼麻子2味药物组成, 刘锐等[12]实验证实该药能改善NAFLD大鼠瘦素及胰岛素抵抗从而达到治疗的目的, 另一作用机制[13]可能与其下调NAFLD大鼠肝脏细胞因子信号转导抑制因子-3 mRNA的表达水平有关.

通便玉蓉丸: 由肉苁蓉、芒硝、当归等组成. 闫曙光等[14]实验表明本药能降低NAFLD大鼠血清和肝脏组织的胆固醇和甘油三脂含量, 并增加肝脏内超氧化物歧化酶活性, 而发挥保护肝细胞的作用.

茵陈蒿汤: 钟成等[15]实验表明茵陈蒿汤能通过改善胰岛素抵抗和脂质代谢紊乱, 抑制氧化应激反应和肝脏损伤而起到改善和治疗NAFLD的作用.

脂易消: 由泽泻、荷叶、半夏、枳壳、决明子、鼠螴草等组成. 陈玉翠等[16]实验证实该药有良好防治NAFLD的作用, 作用机制可以与其能明显降低NAFLD大鼠肝脏组织细胞色素P4502E1 mRNA的表达水平有关.

补肾化浊方: 由女贞子、枸杞子、败酱草、茯苓、黄精、炒山药、决明子、泽泻、茵陈、薏苡仁、冬瓜仁、芦根等组成. 孙建光等[17]实验表明该药能明显改善NAFLD大鼠血清瘦素及胰岛素抵抗, 发挥保肝调脂的作用.

复方首乌降脂颗粒: 由制首乌、制大黄、郁金、山楂、白芥子、泽泻、垂盆草组成. 钱斐等[18]实验证实该药能够有效降低NAFLD小鼠体质量、肝湿质量及血脂, 其作用途径之一可能是增加脂联素受体2的表达从而抑制了小鼠肝脂质的沉积.

柔肝泻脂方: 由生地、何首乌、丹参、泽泻、枸杞子、生山楂组成. 陈琼等[19]实验证实该方能显著增高血清及肝脏SOD水平, 降低MDA含量, 提高血清和肝组织的抗氧化能力, 进而达到预防和治疗脂肪肝的目的.

利湿保肝健脾汤: 由白术、姜黄、橘皮、山楂、茵陈蒿、柴胡、泽泻组成. 王春田等[20]实验表明该药能明显降低NAFLD大鼠血清甘油三酯和总胆固醇含量, 并显著改善肝脏组织脂肪变性.

祛痰活血汤: 由茯苓、陈皮、泽泻、苍

■研发前沿
中医药防治NAFLD研究日益深入, 大量实验药理研究及临床疗效观察证实, 很多单味中药及中药复方疗效显著, 治疗机制逐渐清晰, 中医药在防治NAFLD方面有良好疗效和独特的优势, 并展现出广阔的发展前景.

■相关报道
古宁艳、杨少军著《中医药防治脂肪肝实验研究进展》一文, 2012年发表于《中国中医药信息杂志》, 文中重点阐述单味中药及中药复方的实验研究, 对药物的有效成分及作用机制分析透彻.

术、姜半夏、郁金、佛手、薏苡仁、山楂、白术、丹参、香附、甘草组成. 肖剑等[21]实验证实该药能改善NAFLD大鼠肝功能, 调节脂质代谢紊乱, 显著降低肝组织脂肪变性程度, 并降低组织细胞凋亡指数, 从而达到防治NAFLD的目的.

2.2 临床观察 消脂方: 由陈皮、茯苓、夏枯草、薏苡仁、丹参、女贞子、青皮、生山楂、贝母、党参、草果、灵芝组成. 刘素英等[22]对80例NAFLD患者治疗3 mo临床观察, 治疗组总有效率达90%, 明显优于护肝片对照组(P<0.05).

脂肪肝合剂: 由八月札、白术、赤芍药、桃仁组成. 李文彦等[23]观察该药治疗83例NAFLD患者3 mo后的临床疗效, 患者血脂明显降低, 脂质代谢得到改善, 总有效率84.4%.

安络化纤丸: 由地黄、鸡内金、水蛭、地龙、大黄、僵蚕、瓦楞子、白术、牛黄、丹皮、生麦芽、三七、郁金、水牛角组成. 王丽华[24]临床治疗NAFLD患者197例, 从治疗前后的肝功能、血脂及彩超结果分析, 该药不仅能改善脂质代谢还能有效防治疾病进展为肝纤维化.

柴胡温胆汤: 由柴胡、陈皮、姜半夏、竹茹、虎杖、枳实、黄芩、茯苓、泽泻、大枣、生姜组成. 胡洪涛等[25]从肝功能、血脂及彩超积分观察100例NAFLD患者临床治疗3及6 mo, 治疗组较易善复对照组各指标均明显降低(P<0.05).

清脂汤: 由丹参、荷叶、白术、茯苓、决明子、泽兰、赤芍、红花、生山楂、泽泻组成. 田凌云[26]自拟清脂汤治疗NAFLD临床观察58例, 表明本方具有改善肝功能、保肝降脂的作用, 临床治疗总有效率91.38%.

运脾化浊冲剂: 由薤白、清半夏、黄芩、丹参、三七、薏苡仁、郁金、决明子、白芍、川芎、党参、黄连等组成. 路波等[27]与盐酸二甲双胍片对照治疗NAFLD患者55例, 从患者症状、体征及血清生化、肝脏影像学评价疗效, 治疗组各指标明显优于对照组(P<0.05).

调脂汤: 由五加皮、苍术、白术、赤芍、川芎、黄芪、丹参、鸡内金、金钱草、山楂、郁金、麦芽组成. 应续芹[28]在常规西医治疗基础上加服该药治疗NAFLD, 2个疗程后治疗组总有效率为83.3%, 明显优于单纯西医治疗组(P<0.05).

亚虎保肝汤: 由虎杖、白芍、白术、北沙参、亚贡、柴胡、当归、茯苓、甘草组成. 朱熔等[29]临床观察该药治疗NAFLD 80例, 证实其能有效改善肝功能和调节脂质代谢, 总有效率为95.0%.

疏肝活血降脂汤: 由柴胡、甘草、香附、丹参、焦山楂、郁金、薏苡仁 、白术、山药、莪术、泽泻、虎杖、三棱组成. 陈刚俊[30]与辛伐他丁对照治疗NAFLD, 该药总有效率为99%, 明显优于对照组的75%.

运消汤: 由苍术、绞股蓝、陈皮、白术、法半夏、茯苓、丹参、川楝子、姜黄、生山楂、生麦芽、泽泻、炮甲片组成. 张莉等[31]以易善复胶囊对照治疗NAFLD, 证实本药不仅能很好的改善患者症状、体征, 对生化及肝脏影像学改善亦显著, 总有效率88.37%.

橘黄降脂汤: 橘红、天竺黄、姜黄、决明子、丹参、何首乌、泽泻、酒大黄、郁金、全瓜蒌、生山楂、茯苓、枳壳、三七粉、胆南星组成. 崔凯[32]与东宝肝泰片对照观察该药治疗NAFLD的临床疗效. 结果显示: 治疗组有效率为93.10%, 明显优于对照组的72.50%, 治疗疗效满意.

健脾升清祛浊汤: 生黄芪、山栀子、党参、五味子、生山楂、苍术、荷叶、白术、葛根、茵陈、丹参、柴胡、茯苓、佩兰组成. 王小强[33]临床观察该药治疗NAFLD患者135例, 对照组给予葡醛内酯、B族维生素、维生素C. 证实本药有能保肝降酶, 防止脂肪在肝脏堆积等作用. 治疗组总有效率为85.2%, 明显优于对照组(P<0.5).

活血化痰方: 由丹参、海藻、山楂、泽泻组成. 李刚等[34]临床观察本方治疗NAFLD 30例, 治疗8 wk后患者血脂、肝功转氨酶、肝脏影像学均有显著改善(P<0.05或P<0.01). 提示活血化痰方治疗NAFLD疗效满意.

化痰祛瘀汤: 由苍术、炒白术、决明子、茯苓、郁金、丹参、山楂、枸杞子、泽泻、制大黄、制首乌、青黛组成. 钱海青[35]临床与双环醇片对照观察本方治疗NAFLD 55例, 治疗结果: 治疗组总有效率89.09%, 明显优于对照组的65.45%.

复方沙棘胶囊: 由沙棘、泽泻、白术、山楂、丹参、决明子组成. 黄梅等[36]与安慰剂对照观察该药治疗NAFLD 70例临床疗效, 治疗30 d后, 患者症状明显减轻, 肝功能、血脂显著降低, 总有效率62.86%, 优于对照组的34.29%, 疗效显著.

决明山楂燕麦胶囊: 由决明子、荷叶、山楂、燕麦等组成. 杨立志等[37]在调整饮食及合理运动的基础上, 加用该药治疗NAFLD 82例,

3 mo后患者肝功能、血脂及临床症状均明显改善, 总有效率81.7%. 证实其具有较好降低血脂、保护肝功能及清除肝细胞脂肪堆积的功效.

昆藻调脂胶囊: 由广昆布、丹参、海藻、柴胡、泽泻、何首乌、山楂等药物组成. 杨艳娜等[38]观察该药对128例不同证型脂肪肝的临床疗效. 3 mo后患者肝功能、血脂、肝脏B超均有显著改善, 其中以痰湿瘀阻组疗效最佳(P<0.01).

降脂方: 由丹参、生山楂、决明子、荷叶组成. 胡克晋[39]观察本方结合生活方式治疗110例NAFLD的临床疗效. 12 mo后通过肝功能、血脂评定疗效, 总有效率90.9%, 明显优于对照组(P<0.05).

祛脂涤浊汤: 由柴胡、郁金、虎杖、白芍、生白术、茯苓、泽泻、当归、丹参、全瓜蒌、炒决明、生山楂、炙甘草组成. 钟骏慧等[40]观察65例该药对NAFLD临床疗效及胰岛素抵抗的影响. 8 wk后评价血糖及胰岛素水平, 证实该药能有效治疗NAFLD, 改善胰岛素抵抗.

清脂灵: 由柴胡、茯苓、大黄、半夏、白术、何首乌、生山楂、泽泻、丹参、决明子、白芍、甘草组成. 姚绍琴[41]在硫普罗宁治疗NAFLD基础上加用该药临床观察31例, 16 wk后在改善血脂、肝功能及肝脏影像学方面, 西药加用清脂灵组疗效明显优于单纯西药治疗组(P<0.05).

化浊胶囊: 由黄柏、丹参、黄连、山楂、鸡内金、枳壳组成. 韩胜南等[42]与还原型谷胱甘肽片对比, 临床观察该药治疗NAFLD 90例, 3 mo后评价肝功能、血脂、肝脏彩超及临床症状的改善情况, 治疗组总有效率88.8%.

加味楂曲饮: 由焦山楂、生山楂、荷叶、丹参、神曲、茯苓、绞股蓝、枸杞子、决明子、普洱茶组成. 周显华等[43]临床观察该药治疗NAFLD 46例, 结果证实其保肝降酶及改善肝脏组织学病变程度明显优于当飞利肝宁片对照组, 其机制可能与降低血清转化生长因子-β1、升高血清SOD水平而发挥抗炎、抗氧化作用有关.

复方消脂安肝方: 由柴胡、生黄芪、丹参、泽泻、何首乌组成. 李丽萍等[44]临床观察该药联合减量黄连素治疗NAFLD 120例, 3 mo后患者临床症状、肝功能、血脂、肝脏彩超及血清胰岛素抵抗改善水平均明显优于东宝肝泰片对照组, 总有效率92.5%.

祛湿活血中药方: 由绞股蓝、虎杖、柴胡、茵陈、酒大黄、荷叶、丹参组成. 刘旭东等[45]与单纯饮食及运动对照, 临床观察该药治疗NAFLD 40例, 3 mo后患者症状、血脂、肝功能及肝脏影像学均有明显改善.

二黄去脂汤: 由酒大黄、姜黄、丹参、生山楂、茯苓、郁金、三七粉、何首乌、枳壳、泽泻、决明子组成. 孟春月[46]与东宝肝泰片对照, 临床观察该药治疗痰瘀内阻证NAFLD 40例, 3 mo后治疗组有效率95%, 疗效明显优于对照组(P<0.05).

健脾化脂汤: 由山药、黄芪、陈皮、柴胡、茯苓、郁金、山楂、白术、首乌、决明子、泽泻、赤芍组成. 张玉禄等[47]采用易善复胶囊同时服用该药治疗NAFLD 30例, 3 mo后与单纯口服西药相比, 患者TC、TG、血清瘦素明显降低, 总有效率90%, 作用机制可能与改善肝功能, 调节血糖、血脂代谢, 影响瘦素水平等作用有关.

健脾化湿汤: 由太子参、茯苓、白术、甘草、半夏、陈皮组成. 石燕萍等[48]以与易善复胶囊对照, 临床观察该药治疗脾虚湿蕴证NAFLD 53例, 3 mo后患者症状、血脂、肝功能、肝脏CT均明显优于对照组(P<0.05).

消脂保肝饮: 由生黄芪、西红花、炒白术、白茯苓、生薏苡仁、郁金、泽兰、泽泻组成. 虞胜等[49]与易善复片、肝勃宁胶囊对照, 临床观察该药治疗NAFLD 32例, 3 mo后患者肝功能、血脂及肝脏影像学均有显著改善, 疗效明显优于对照组(P<0.01).

柴越汤: 由白芍、柴胡、川芎、香附、生麦芽、郁金、赤芍、神曲、生山楂、茯苓、薏苡仁、陈皮、苍术、冬瓜仁、枳壳、浙贝母、甘草组成. 苗祥东[50]与东宝肝泰片对照, 临床观察该药治疗NAFLD 81例, 4 wk后治疗组降血脂及改善肝脏功能的总体疗效明显优于对照组(P<0.05).

平脂养肝汤: 由泽泻、茯苓、红花、柴胡、生首乌、陈皮、生大黄、丹参、山楂、川芎、当归、葛根、枳壳、地龙、白术、枸杞子组成. 贾满仓[51]与脂必妥对照, 临床观察该药治疗NAFLD 40例, 9 wk后治疗组肝功能、血脂、肝脏B超及临床症状均得到良好改善, 疗效明显优于对照组(P<0.05或P<0.01).

疏肝降脂胶囊: 由泽泻、丹参、柴胡、决明子、荷叶组成. 程小彬[52]与安慰剂对照, 临床观察该药治疗NAFLD 31例, 半年后患者症状及血脂明显改善, 总有效率80.6%.

■创新盘点

本文收集近3年相关中医药防治NAFLD的文献, 总结单味中药及中药复方的用药、疗效及作用机制, 为临床指导NAFLD的治疗提供坚实理论基础.

■应用要点
充分发挥中医辨证论治的特点, 加强临床与实验研究的结合, 科学、合理的指导临床治疗, 更有利于中医药研究的发展和推广.

3 结论

虽然中医药在防治NAFLD方面有良好疗效和独特优势, 但至今还存在一些问题尚需完善. 如实验药理研究方面: 如何建立符合中医诊断标准的动物模型; 如何体现中医药的辨证论治原则; 中医症候、病因病机如何深入研究等. 临床疗效观察方面: 诊断辨证、治疗用药、疗效判定均缺乏客观而统一的标准; 报道文献缺乏大样本, 可重复性差; 对照组药的选择缺乏说服力等. 因此, 在今后研究中, 应充分发挥中医辨证论治的特点, 加强临床与实验研究的结合, 力争寻找一套有据可依, 有证可循, 行之有效的中医诊疗标准, 才能真正科学、合理的指导临床治疗, 更有利于中医药研究的发展和推广.

4 参考文献

1 郭建利, 张睦清, 韩雪, 何英肖, 路帅, 张一昕. 丹参不同组分防治大鼠非酒精性脂肪肝模型作用机制的研究. 河北中医药学报 2012; 27: 8-9
2 路帅, 韩雪, 张睦清, 段晨阳, 郭建利, 张一昕. 丹参防治大鼠非酒精性脂肪肝的药效机制研究. 甘肃中医学院学报 2012; 29: 4-6
3 姜秀娟, 王旭辉, 丁晓猛, 李爽, 甄艳军. 木贼对食饵性脂肪肝大鼠肝细胞增殖与凋亡的影响. 时珍国医国药 2011; 22: 1163-1164
4 曹宁, 郭文洁, 唐佳喻, 樊晶晶, 何国庆, 沈燕, 徐强. 乌药叶总黄酮对高脂血症脂肪肝小鼠模型的降脂作用. 中药新药与临床药理 2011; 22: 149-153
5 朱炜, 俞宏斌, 戴闯, 冯文明. 余甘子对大鼠非酒精性脂肪肝疾病中肝损伤和炎症的抑制作用研究. 医学研究杂志 2012; 41: 140-143
6 陈丽, 张绪东, 焦杨, 付书婕, 黄仁彬. 玉郎伞提取物对食饵性高脂血症大鼠肝脏脂蛋白代谢相关酶活性及脂肪肝的影响. 中国实验方剂学杂志 2012; 18: 254-258
7 周玲玲, 林琼琼, 周伶俐, 祁旦巳, 赵志光. 姜黄素对非酒精性脂肪肝家兔血脂及肝组织PPAR-γ水平的影响. 浙江中西医结合杂志 2012; 22: 7-10
8 赵志光, 周玲玲, 林琼琼, 周伶俐. 姜黄素对非酒精性脂肪肝家兔肝组织TNF-α表达的影响. 浙江中西医结合杂志 2013; 23: 184-186
9 张荣, 李晓波, 徐大志, 宓穗卿, 王宁生. 黄皮叶对非酒精性脂肪肝大鼠肝组织ATP和ADP含量的影响. 中药药理与临床 2012; 28: 95-98
10 徐晶莹, 朱肖鸿, 胡洁, 倪桂宝, 孙明洪. 枳椇子对非酒精性脂肪肝大鼠血清TNF-α、IL-6、IL-8水平的影响. 中国中医药科技 2012; 19: 35-38
11 李迎春, 高泽立, 张成, 方琦, 姚蔚, 金丽雯. 中药沙棘治疗非酒精性脂肪肝的临床研究. 现代中西医结合杂志 2012; 21: 1485-1494
12 刘锐, 李劲平, 伍娟娟, 甘国兴, 莫新民. 丹蒌软胶囊对非酒精性脂肪肝模型大鼠胰岛素抵抗及瘦素抵抗的影响. 中国实验方剂学杂志 2012; 18: 188-191
13 刘锐, 李劲平, 伍娟娟, 范娟娟, 莫新民. 丹蒌软胶囊对非酒精性脂肪肝模型大鼠肝脏SOCS-3 mRNA表达的影响. 中华中医药学刊 2012; 30: 191-193
14 闫曙光, 周永学, 惠毅. 通便玉蓉丸治疗非酒精性脂肪肝及高脂血症的实验研究. 陕西中医 2012; 33: 111-113
15 钟成, 潘竞锵, 吕俊华, 郑琳颖, 李博萍. 茵陈蒿汤对代谢综合征-脂肪肝大鼠增强胰岛素敏感性及抗脂肪肝作用. 临床医学工程 2012; 19: 520-523
16 陈玉翠, 周岳君, 赵国强, 田有坤. 脂易消对非酒精性脂肪肝CYP2E1基因表达的调控. 中国医学创新 2012; 9: 136-137
17 孙建光, 高继龙. 补肾化浊方对非酒精性脂肪肝大鼠血清瘦素与胰岛素抵抗的影响. 中国实验方剂学杂志 2012; 18: 288-291
18 钱斐, 张征波, 孙晓琦, 耿泽, 周欣, 薛博瑜. 复方首乌降脂颗粒对非酒精性脂肪肝小鼠肝脂质沉积的干预作用. 时珍国医国药 2012; 23: 1858-1860
19 陈琼, 项晓觉, 毛娜. 柔肝泻脂方对非酒精性脂肪肝大鼠SOD、MDA的影响. 陕西中医 2011; 32: 103-105
20 王春田, 李敏, 李然. 利湿保肝健脾汤对大鼠非酒精性脂肪肝影响的研究. 中医药信息 2012; 29: 59-60
21 肖剑, 汪静, 米绍平, 张光海, 高翔. 祛痰活血汤对非酒精性脂肪肝大鼠细胞凋亡的影响. 中国实验方剂学杂志 2012; 18: 183-186
22 刘素英, 徐明庚, 宋小秋. 自拟消脂方治疗非酒精性脂肪肝临床研究. 中外医疗 2012; 6: 136
23 李文彦, 吕云佳, 方顺济. 自拟脂肪肝合剂治疗非酒精性脂肪肝病的疗效观察. 上海中医药杂志 2012; 46: 36-38
24 王丽华. 安络化纤丸治疗非酒精性脂肪肝临床观察. 中国社区医师 2012; 14: 234
25 胡洪涛, 蒋开平, 李建鸿, 陶银. 柴胡温胆汤治疗非酒精性脂肪肝50例临床观察. 中医临床研究 2012; 4: 3-5
26 田凌云. 自拟清脂汤治疗非酒精性脂肪肝58例. 中国民间疗法 2012; 20: 32-33
27 路波, 杨栓柱. 运脾化浊冲剂治疗非酒精性脂肪肝疗效观察. 陕西中医 2012; 33: 449-451
28 应续芹. 自拟调脂汤治疗脂肪肝临床分析. 当代医学 2012; 18: 154-155
29 朱熔, 王宇静, 余泽云. 亚虎保肝汤治疗非酒精性脂肪肝80例临床观察. 中国社区医师 2012; 3: 195-196
30 陈刚俊. 疏肝活血降脂汤治疗脂肪肝疗效观察. 实用中医药杂志 2012; 28: 270-271
31 张莉, 洪哲明. 培土运脾法治疗非酒精性脂肪肝43例疗效观察. 四川中医 2012; 30: 89-90
32 崔凯. 橘黄降脂汤治疗非酒精性脂肪肝58例. 河南中医 2012; 32: 580-581
33 王小强. 健脾升清祛浊汤治疗非酒精性脂肪肝肝功能异常135例. 山东中医杂志 2012; 31: 161-162
34 李刚, 李尤玲, 谭华炳, 盛国光. 活血化瘀方治疗非酒精性脂肪肝30例总结. 湖南中医杂志 2012; 28: 41-42
35 钱海青. 化痰祛瘀汤治疗非酒精性脂肪肝55例. 浙江中医杂志 2012; 47: 330
36 黄梅, 张燕, 韩平, 唐茂清. 复方沙棘胶囊治疗非酒精性脂肪肝70例疗效观察. 西部医学 2012; 24: 359-361
37 杨立志, 尉杰忠, 刘世芳, 李占海, 吕宪, 侯泽, 张海飞, 马存根. 决明山楂燕麦胶囊治疗脂肪肝82例. 中国中西医结合消化杂志 2012; 20: 84-85
38 杨艳娜, 孔祥廉, 王云庭, 梅全喜, 黄安安. 昆藻调脂胶囊对不同证型脂肪肝的临床观察. 亚太传统医药 2012; 8: 69-71
39 胡克晋. 自拟降脂方结合生活方式干预治疗非酒精性脂肪肝临床观察. 中医药导报 2012; 18: 39-41
40 钟骏慧, 江洪. 祛脂涤浊汤对非酒精性单纯性脂肪肝患者胰岛素抵抗的影响. 中国中医急症 2012; 21: 449-450
41 姚绍琴. 中西医结合治疗非酒精性脂肪肝31例疗效观察. 中华全科医学 2012; 10: 750-751
42 韩胜南, 康学东. 化浊胶囊治疗非酒精性脂肪肝的临床观察研究. 光明中医 2013; 28: 29-31
43 周显华, 张传涛, 郑政隆, 范昕建, 张莉敏, 杨鸿, 李白雪, 张晓婷, 周威龙. 加味楂曲饮治疗非酒精性脂肪肝的临床疗效及机制研究. 加味楂曲饮治疗非酒精性脂肪肝的临床疗效及机制研究 2013; 19: 285-288

44 李丽萍, 孙飞, 张立国, 郑桂杰. 复方消脂安肝方治疗非酒精性脂肪肝疗效观察. 中国冶金工业医学杂志 2013; 30: 71-73
45 刘旭东, 涂燕云, 张红星. 祛湿活血中药治疗非酒精性脂肪肝40例. 陕西中医 2013; 44: 16-18
46 孟春月. 二黄去脂汤治疗痰瘀内阻证非酒精性脂肪肝临床研究. 中医学报 2012; 27: 1645-1646
47 张玉禄, 周英武, 张进虎, 刘媛媛. 健脾化浊法对非酒精性脂肪肝患者瘦素的影响及疗效分析. 中医中药 2012; 2: 97-99
48 石燕萍, 王效非, 孙京惠, 牛少强, 曾双辉, 自拟健脾化湿汤治疗非酒精性脂肪肝53例疗效观察. 现代生物医学进展 2012; 27: 5336-6340
49 虞胜, 李勇, 祝峻峰, 余莉芳. 消脂保肝饮加减治疗非酒精性脂肪性肝病的临床疗效观察. 上海中医药大学学报 2011; 25: 46-48
50 苗祥东. 柴越汤治疗非酒精性脂肪肝81例. 山东中医杂志 2012; 31: 640-642
51 贾满仓. 平脂养肝汤治疗非酒精性脂肪肝临床研究. 光明中医 2012; 27: 720-721
52 程小彬. 疏肝降脂胶囊治疗非酒精性脂肪肝临床分析. 辽宁中医杂志 2012; 39: 309-310

■同行评价
本文针对单味中药及复方中药制剂防治NAFLD的相关研究进行综述, 较全面的展示了该领域内的研究进展, 并提出存在的问题, 对于NAFLD的研究及防治具有一定的指导意义.

编辑 田滢 电编 闫晋利

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

世界华人消化杂志 2013年6月28日; 21(18): 1714-1719
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

维生素D与慢性肝病

朱 鸣, 徐列明

■背景资料
目前对维生素D与慢性肝病(chronic liver disease, CLD)的研究日益增加, 且越来越多的研究发现维生素D与CLD关系密切.

朱鸣, 徐列明, 上海中医药大学附属曙光医院 上海中医药大学肝病研究所 上海市 201203
徐列明, 肝肾疾病病证教育部重点实验室 上海市中医临床重点实验室 国家中医药管理局重点研究室(慢性肝病虚损) 上海市 201203
朱鸣, 在读硕士, 主要从事中医药防治慢性肝病的临床研究.
上海市教育委员会重点学科(第五期)建设基金资助项目, No. J50307
上海市高校创新团队建设基金资助项目(第一期)
国家中医药管理局中医肝胆病重点学科基金资助项目, No. 2010sh
作者贡献分布: 朱鸣负责查阅文献和执笔; 徐列明负责指导和文章修改.
通讯作者: 徐列明, 教授, 主任医师, 201203, 上海市浦东新区张衡路538号, 上海中医药大学附属曙光医院, 上海中医药大学肝病研究所, 肝肾疾病病证教育部重点实验室, 上海市中医临床重点实验室, 国家中医药管理局重点研究室(慢性肝病虚损).
xulieming@shutcm.edu.cn
收稿日期: 2013-04-08 修回日期: 2013-04-22
接受日期: 2013-05-12 在线出版日期: 2013-06-28

Relationship between vitamin D and chronic liver diseases

Ming Zhu, Lie-Ming Xu

Ming Zhu, Lie-Ming Xu, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine; Institute of Liver Diseases, Shanghai University of TCM, Shanghai 201203, China
Lie-Ming Xu, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Institute of Liver Diseases, Shanghai University of TCM; Key Laboratory of Liver and Kidney Diseases, Ministry of Education, Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Clinic, Shanghai, the Key Unit of Liver Diseases, SATCM, Shanghai 201203, China
Supported by: the Leading Academic Discipline Project of Shanghai Municipal Education Commission, No. J50307; the Innovation Research Team in Universities, Shanghai Municipal Education Commission; the Leading Academic Discipline of Hepatology of State Administration of TCM, No. 2010sh
Correspondence to: Lie-Ming Xu, Professor, Chief Physician, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Institute of Liver Diseases, Shanghai University of TCM; Key Laboratory of Liver and Kidney Diseases, Ministry of Education, Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Clinic, Shanghai, the Key Unit of Liver Diseases, SATCM, 538 Zhangheng Road, Pudong District, Shanghai 201203, China. xulieming@shutcm.edu.cn
Received: 2013-04-08 Revised: 2013-04-22
Accepted: 2013-05-12 Published online: 2013-06-28

Abstract
Vitamin D is a fat-soluble vitamin with multiple biological effects that is predominantly synthetized in the liver. Various kinds of chronic liver diseases are associated with vitamin D deficiency, and vitamin D supplementation may influence treatment outcome. This article summarizes the role of vitamin D in the pathogenesis and treatment of chronic liver diseases to provide new insight into the treatment of these diseases.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Vitamin D; Chronic liver diseases; Hepatic osteodystrophy

Zhu M, Xu LM. Relationship between vitamin D and chronic liver diseases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(18): 1714-1719 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1714.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i18.1714

摘要
维生素D是一种主要在肝脏合成并具有多重生物学效应的脂溶性维生素. 目前发现多种慢性肝病(chronic liver disease, CLD)都与维生素D缺乏有关, 而且补充维生素D能够影响治疗效果. 本文通过回顾近年来维生素D与CLD之间的相关基础和临床试验研究, 总结维生素D在CLD发病机制和治疗中的作用, 为临床研究和治疗提供新的思路.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 维生素D; 慢性肝病; 肝性骨营养不良

核心提示: 维生素D具有抗炎、抗病毒、抗肝纤维化和免疫调节等作用, 在某些疾病的发展中作为一种信号通路存在, 可能会成为一种新的生物标志物, 而且是治疗原发性肝癌, 病毒性肝炎的一种潜在辅助治疗方法.

朱鸣, 徐列明. 维生素D与慢性肝病. 世界华人消化杂志 2013; 21(18): 1714-1719 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1714.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i18.1714

0 引言
维生素D是一种脂溶性维生素, 主要来源于紫外

■同行评议者
白岚, 教授, 主任医师, 南方医院患侨科; 赵铁建, 教授, 广西中医药大学基础医学院生理学教研室

线照射和食物并在肝脏合成, 对维持体内钙磷平衡和骨骼健康有重要作用. 虽然不是许多生化反应中必需的辅酶因子, 但却是一个具有调节细胞增殖和分化、免疫调节、抗菌及抗纤维化等多重作用的生理调节因子. 目前维生素D与慢性肝病(chronic liver disease, CLD)之间的关系越来越受到研究者的重视.

1 维生素D的来源及合成

人体的维生素D主要来源于食物和紫外线照射, 其活性形式主要为维生素D_2和维生素D_3. 皮肤经日晒后由7-脱氢胆固醇形成维生素D_3前体, 异构化为维生素D_3后转运至肝脏并与维生素D结合蛋白(vitamin D binding protein, VBP)结合, 在肝脏羟基化为25(OH)维生素D[1]. 而维生素D_2则主要从菌菇类食物和酵母菌中获取, 经消化后在肠腔内通过肠上皮细胞与乳糜微粒混合, 然后经静脉循环进入肝脏进行羟基化. 此后25(OH)维生素D在肾脏被细胞色素P450超家族的1α羟化酶(CYP27B1)进一步羟基化为1α-25$(OH)_2$维生素D后才具有生物学活性[2]. 1α-25$(OH)_2$维生素D通过与维生素D受体(vitamin D receptor, VDR)结合调节大多数生物学效应, VDR几乎存在于人体所有组织中.

25(OH)维生素D由于其半衰期较长, 常被作为评价人体维生素D状况的主要指标, 血清25(OH)维生素D的最佳水平为30-50 ng/mL, 低于20 ng/mL时为维生素D缺乏. 血清25(OH)维生素D水平低于30 ng/mL时会刺激性引起甲状旁腺激素水平升高.

2 维生素D与CLD

CLD是指由于受到肝炎病毒、酒精等其他因素的影响, 肝脏结构呈长期进展性的破坏和重建, 肝功能逐渐下降的过程, 包括各种慢性肝炎、肝硬化等. 在中医学中属于癥积、胁痛、黄疸、臌胀等范畴. 维生素D缺乏是CLD中的常见问题, 发病率高达64%-92%[3], 而且与疾病严重程度密切相关[4]. CLD的重要并发症-肝性骨营养不良(hepatic osteodystrophy, HO)也与维生素D缺乏密切相关. 导致CLD患者维生素D缺乏的病因包括: 饮食摄入和日照减少, 肝外脂肪组织中维生素D的利用增加, 肠道吸收功能减退, 此外肝脏内维生素D羟化无反馈调节, 当存在肝实质疾病时, 维生素D的羟化受损[5,6].

2.1 维生素D与慢性丙型肝炎 研究认为维生素D在病毒性肝炎的发展和治疗中起重要作用[7]. 目前对维生素D与病毒性肝炎的研究重点主要集中在慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC). 越来越多临床证据表明丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染的患者具有高维生素D缺乏风险. 一项大规模研究发现HCV阳性患者的血清25(OH)维生素D水平明显低于年龄性别匹配的健康对照组(分别为25.1 ng/mL±9.9 ng/mL和43.1 ng/mL±10.2 ng/mL, $P<0.0001$), 且73%的CHC患者低于30 ng/mL, 而对照组仅为6%, 这可能是因为HCV通过改变脂质代谢抑制了25(OH)维生素D的水平[8]. 而CHC患者出现维生素D缺乏还可能是因为HCV减少了维生素D前体-7-脱氢胆固醇的产生[9].

体外研究发现血清维生素D水平与CHC患者的病毒载量呈显著正相关[10,11], 丙型肝炎病毒RNA(HCVRNA)是HCV的核酸成分. 维生素D能够直接抑制HCV RNA复制, 具有天然抗病毒活性[12], 而且他与干扰素的协同抗病毒作用能提高HCV感染者的抗病毒疗效[13]. 多项回顾性研究表明维生素D能影响CHC的治疗效果和临床结局. 例如维生素D的基线水平能预测HCV 1型, 2型和3型患者用聚乙二醇干扰素(PEGIFN)+RBV抗病毒治疗时的持续病毒学应答(sustained virological response, SVR), 适当补充维生素D能够显著提高SVR. SVR的升高可能是由于维生素D改善了胰岛素抵抗[14,15].

此外, 低血清25(OH)维生素D水平与CHC患者肝脏纤维化的严重程度和组织学表现相关: 维生素D缺乏患者的肝脏坏死性炎症程度, 纤维化程度更高, 而且纤维化的进展可能更快[16,17], 但也有研究认为补充维生素D并不能够改变病毒水平和生化检测结果, 补充维生素D对SVR也无影响[18,19].

2.2 维生素D与非酒精性脂肪性肝病 目前世界范围内非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的发病率呈上升趋势, 虽然NAFLD的发病机制目前尚未明确, 但普遍认为胰岛素抵抗有可能是其中一个重要原因[20]. 肥胖和胰岛素抵抗与维生素D水平呈负相关. 身体质量指数(body mass index, BMI)每升高1 kg/m^2, 维生素D水平会下降1.3 nmol/L[21]. 研究发现维生素D缺乏人群的NAFLD发生率明显高于维生素D水平正常者, 同样NAFLD人群中维生素D水平降低的发生率也显著高于非NAFLD患者, 而且肝脏的脂肪变性, 坏死性炎症和纤维化程度

■研发前沿
维生素D具有改善慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC)患者S持续病毒学应答(sustained virological response, SVR), 抗肝纤维化和免疫调节, 以及减少肝性骨病发生的重要作用, 但目前对是否补充维生素D及补充量仍存在争议.

■相关报道
研究报道指出, 维生素D的缺乏在CLD患者中非常常见, 与治疗反应和预后密切相关, 同时具有多重作用, 尤其是在改善CHC患者SVR和抗肝纤维化中所起的作用为丙肝和其他CLD的辅助治疗提供了新的思路.

严重的NAFLD患者, 维生素D水平更低[22]. 这可能是因为1α-25(OH)$_2$维生素D和VDR在胰岛β细胞中都有表达, 且低维生素D水平与胰岛β细胞功能受损有关, 1α-25(OH)$_2$维生素D还能够激活胰岛素基因的转录. 此外血清维生素D的水平还与能够改善肝内胰岛素抵抗, 减轻肝脏炎症和纤维化程度的脂联素水平相关, 维生素D可通过诱导白色脂肪组织中脂联素的表达从而在改善胰岛素抵抗方面起作用[23]. 临床前研究发现对NAFLD患者进行光线疗法和补充维生素D能够改善肝脏的组织学表现[24], 但是一项针对中国人的研究并没有发现维生素D与NAFLD有关, 仍然需要更多的研究来证实两者之间的关系[25].

2.3 维生素D与免疫性肝病 维生素D具有免疫调节作用, 在先天和适应性免疫系统中都有重要作用, 其中巨噬细胞, T细胞, 树突状细胞都在1α羟化酶和VDR中表达. 流行病学调查显示许多自身免疫性疾病在高海拔区的患病率较高[26], 可能是与纬度增高日晒减少所致的维生素D水平降低有关. 维生素D与自身免疫性肝病尤其是原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)之间的关系引起了许多研究者的重视[27,28]. 维生素D受体激动剂是一种能够抑制TH1介导的免疫反应的强效免疫调节剂, 而PBC是一种TH1介导的免疫性疾病, 多个国家的研究表明, VDR的多态性可能与人群中PBC的易感性有关[29-32]. Lim等[33]的研究发现具有抗菌和免疫调节作用并受到维生素D$_3$调节的抗菌肽和VDR在人胆管上皮细胞中的表达增加, 且抗菌肽的表达同时受到鹅去氧胆酸和熊去氧胆酸的诱导. 对胆管上皮细胞予以熊去氧胆酸后再加入维生素D, 抗菌肽的表达会进一步增加, 提示维生素D和熊去氧胆酸可能对胆管上皮细胞具有协同作用.

与其他疾病相比, PBC患者更容易出现肝性骨营养不良, 可能与脂溶性维生素如维生素D吸收不良有关, 并且胆汁淤积性肝病患者常出现黄疸, 而胆红素升高会影响成骨细胞的分化和矿化[34]. 这都会引起PBC患者出现低维生素D水平.

2.4 维生素D与肝硬化 肝硬化患者由于肝脏功能严重受损, 导致一些转运蛋白如白蛋白和维生素D结合蛋白合成减少, 使肝硬化患者的维生素D缺乏十分常见. 体外实验表明1α-25(OH)$_2$维生素D在肺成纤维细胞和骨髓间充质干细胞中具有抗纤维化作用, 而且对纤维化大鼠也具有抗细胞增殖和抗纤维化作用. 其作用机制是1α-25二羟维生素D能够通过上调VDR在肝星状细胞中的表达, 抑制肝星状细胞增殖和细胞周期蛋白D$_1$, 金属蛋白酶组织抑制剂1和胶原蛋白1α1的表达. 还能够通过降低体内平滑肌肌动蛋白和胶原蛋白的水平, 阻止硫代乙酰胺所诱导的肝硬化进展[16]. 然而维生素D作为抗纤维化药物的临床意义尚未确定. 此外, *VDR*的基因多态性也与纤维化的进展有关, 低水平的VDR也是严重肝脏疾病的预后因子之一[35].

2.5 维生素D与原发性肝癌 尽管目前有关维生素D与肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)关系的流行病学证据并不充分, 但细胞培养和动物模型实验已清除的表明HCC细胞对维生素D及其类似物的抑制作用有反应性. 具有生物学活性的1α-25(OH)$_2$维生素D$_3$能够发挥多种抗肿瘤作用, 包括抗增殖、抗炎、抗血管新生、促凋亡、促进分化和抑制肿瘤细胞侵犯[36]. 对重症联合免疫缺陷(severe combined immune deficiency, SCID)大鼠的相关实验表明, 维生素D结合蛋白-巨噬细胞活化因子(vitamin D binding protein-macrophage activating factor, VBP-MAF)通过活化巨噬细胞, 具有抗血管新生和肿瘤杀伤活性的作用[37]. *VDR*基因多态性也与肝硬化患者HCC的发生显著相关, 尤其是在酒精性肝硬化患者中[35]. 由于活性维生素D的进行性下降与肝病进展有关, 因此高危人群在预防HCC的过程中, 除了动态监测甲胎蛋白水平, 白介素6(interleukin-6, IL-6), 白介素-7和维生素D的水平可能也是潜在的生物标志物[36,38]. 因此维生素D可能会成为一种治疗HCC的新方法. 此外, 维生素D缺乏在肝移植患者中常见, 还与患者的预后密切相关[39,40].

2.6 维生素D与肝性骨营养不良 CLD的一个重要并发症是肝性骨营养不良, 包括骨量减少和骨质疏松, 尤其是在胆汁淤积性肝病患者中, 两者都会导致骨折从而引起疼痛、行动受限和畸形[41]. 与肝性骨营养不良发病相关的因素包括: 钙摄入不足和维生素D水平低. 导致维生素D水平下降的原因包括: 性腺机能减退(绝经后女性由于雌激素水平下降使骨质流失增加, 而男性患者虽然雌激素水平升高, 但是由于受到芳构化的影响并不能起到防止骨质流失的作用); 低BMI(<19 kg/m^2); 维生素K缺乏(维生素K缺乏是成骨细胞合成骨钙素基质蛋白的重要辅助因子, 是PBC患者骨质疏松的原因之一, 补充K能够减

少骨量流失); 持续使用类固醇激素(如强的松龙5 mg/d, 使用3 mo以上); 高胆红素血症; 长期久坐不动的生活方式, 及过量饮酒[42,43]. 一些特定基因的多态性在慢性胆汁淤积性肝病患者骨质疏松的发病中起次要作用, 如*VDR*基因, Ⅰ型胶原蛋白a1基因和胰岛素样生长因子[44]. 虽然有研究认为在艾滋病(human immunodeficiency virus, HIV)和HCV共感染患者中, 维生素D的缺乏与骨密度和纤维化程度相关[45], 但肝病患者的维生素D水平与骨密度之间是否存在相关关系以及补充维生素D或钙能否提高提高骨密度仍然存在争议.

肝性骨营养不良患者最常见的骨折为椎体骨折, 对肝性骨营养不良进行诊断和治疗的主要目的是为了防止骨折, 应通过双重能量X线吸光测定法对腰椎和股骨颈进行骨密度检测, 此外还应包括其他的生化检查如肝功能, 性激素和甲状腺激素[46]. 目前对于肝性骨病的治疗尚无具体的推荐药物, 但二磷酸盐是慢性胆汁淤积性肝病患者增加骨量的一种安全有效药物[47].

3 维生素D的补充

由于多项研究表明低水平的血清维生素D可能会减弱HCV感染时PEGIFN加利巴韦林抗病毒治疗的病毒学应答, 而且补充维生素D能够提高CHC患者及HIV/HCV共感染患者抗病毒治疗的SVR[48], 目前仍建议对所有CLD患者进行血清维生素D水平进行评估, 如果血清25(OH)维生素D水平<50 nmol/L(20 ng/mL)应考虑每日补充维生素D_3 1000-4000国际单位. 而且越来越多的证据表明, 对准备接受抗病毒治疗的CHC患者而言, 当25羟维生素D水平低于75 nmol/L(30 ng/mL)就应当考虑补充维生素D[49,50].

4 结论

维生素D作为一种重要的生理调节因子, 除能够维持骨骼健康外, 还具有抗菌、抗纤维化以及通过旁分泌途径参与免疫应答和细胞信息传导的作用. 维生素D和VDR以及VBP与多种CLD的发病, 治疗效果及预后相关[51]. 虽然欧洲肝病学会2009年慢性胆汁淤积性肝病诊疗指南建议患者补充维生素D, 但目前是否把补充维生素D作为辅助治疗手段, 对维生素D的目标水平和用药剂量仍无定论. 而且目前的临床试验由于设计中并不包含对维生素D对肝纤维化进展比率(HCV复制患者和已获得SVR患者), 肝细胞癌的发生率和骨折的发生率的影响[52], 因此仍然需要精心设计的临床试验来评估补充维生素D的治疗效果. 此外, 对维生素D与慢性乙型肝炎之间关系的研究较少, 而中国乙型肝炎患者人数众多, 这方面的研究成果对解决实际问题意义重大.

■创新盘点

本文着眼于维生素D与CLD的关系, 从多个角度, 较全面的概括和综述了维生素D在各种CLD的发展中所起到的作用, 并总结了如何补充维生素D, 为临床医生提供参考.

5 参考文献

1 Kulda V. [Vitamin D metabolism]. *Vnitr Lek* 2012; 58: 400-404 [PMID: 22716179]
2 Holick MF. Vitamin D: Physiology, Molecular biology, and Clinical applications. 2th ed. Totowa: Humana Press Inc, 2010: 1186
3 Arteh J, Narra S, Nair S. Prevalence of vitamin D deficiency in chronic liver disease. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 2624-2628 [PMID: 19960254 DOI: 10.1007/s10620-009-1069-9]
4 Malham M, Jørgensen SP, Ott P, Agnholt J, Vilstrup H, Borre M, Dahlerup JF. Vitamin D deficiency in cirrhosis relates to liver dysfunction rather than aetiology. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 922-925 [PMID: 21412501 DOI: 10.3748/wjg.v17.i7.922]
5 Stokes CS, Volmer DA, Grünhage F, Lammert F. Vitamin D in chronic liver disease. *Liver Int* 2013; 33: 338-352 [PMID: 23402606 DOI: 10.1111/liv.12106]
6 Nair S. Vitamin d deficiency and liver disease. *Gastroenterol Hepatol* (NY) 2010; 6: 491-493 [PMID: 20978551]
7 Lương Kv, Nguyễn LT. Theoretical basis of a beneficial role for vitamin D in viral hepatitis. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 5338-5350 [PMID: 23082050 DOI: 10.3748/wjg.v18.i38.5338]
8 Petta S, Cammà C, Scazzone C, Tripodo C, Di Marco V, Bono A, Cabibi D, Licata G, Porcasi R, Marchesini G, Craxí A. Low vitamin D serum level is related to severe fibrosis and low responsiveness to interferon-based therapy in genotype 1 chronic hepatitis C. *Hepatology* 2010; 51: 1158-1167 [PMID: 20162613 DOI: 10.1002/hep.23489]
9 Clark PJ, Thompson AJ, Vock DM, Kratz LE, Tolun AA, Muir AJ, McHutchison JG, Subramanian M, Millington DM, Kelley RI, Patel K. Hepatitis C virus selectively perturbs the distal cholesterol synthesis pathway in a genotype-specific manner. *Hepatology* 2012; 56: 49-56 [PMID: 22318926 DOI: 10.1002/hep.25631]
10 Terrier B, Carrat F, Geri G, Pol S, Piroth L, Halfon P, Poynard T, Souberbielle JC, Cacoub P. Low 25-OH vitamin D serum levels correlate with severe fibrosis in HIV-HCV co-infected patients with chronic hepatitis. *J Hepatol* 2011; 55: 756-761 [PMID: 21334402 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.01.041]
11 Mandorfer M, Reiberger T, Payer BA, Ferlitsch A, Breitenecker F, Aichelburg MC, Obermayer-Pietsch B, Rieger A, Trauner M, Peck-Radosavljevic M. Low vitamin D levels are associated with impaired virologic response to PEGIFN+RBV therapy in HIV-hepatitis C virus coinfected patients. *AIDS* 2013; 27: 227-232 [PMID: 23238552 DOI: 10.1097/QAD.0b013e32835aa161]
12 Gal-Tanamy M, Bachmetov L, Ravid A, Koren R, Erman A, Tur-Kaspa R, Zemel R. Vitamin D: an innate antiviral agent suppressing hepatitis C virus in human hepatocytes. *Hepatology* 2011; 54: 1570-1579 [PMID: 21793032 DOI: 10.1002/hep.24575]

■应用要点
本文提出了在目前研究中所存在的问题，为新的研究提供思路，并希望能够提高临床医生对CLD患者维生素D缺乏与肝性骨病的重视.

13 Bitetto D, Fabris C, Fornasiere E, Pipan C, Fumolo E, Cussigh A, Bignulin S, Cmet S, Fontanini E, Falleti E, Martinella R, Pirisi M, Toniutto P. Vitamin D supplementation improves response to antiviral treatment for recurrent hepatitis C. *Transpl Int* 2011; 24: 43-50 [PMID: 20649944 DOI: 10.1111/j.1432-2277.2010.01141.x]

14 Abu-Mouch S, Fireman Z, Jarchovsky J, Zeina AR, Assy N. Vitamin D supplementation improves sustained virologic response in chronic hepatitis C (genotype 1)-naïve patients. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 5184-5190 [PMID: 22215943 DOI: 10.3748/wjg.v17.i47.5184]

15 Nimer A, Mouch A. Vitamin D improves viral response in hepatitis C genotype 2-3 naïve patients. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 800-805 [PMID: 22371640 DOI: 10.3748/wjg.v18.i8.800]

16 Baur K, Mertens JC, Schmitt J, Iwata R, Stieger B, Eloranta JJ, Frei P, Stickel F, Dill MT, Seifert B, Ferrari HA, von Eckardstein A, Bochud PY, Müllhaupt B, Geier A. Combined effect of 25-OH vitamin D plasma levels and genetic vitamin D receptor (NR 1I1) variants on fibrosis progression rate in HCV patients. *Liver Int* 2012; 32: 635-643 [PMID: 22151003 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2011.02674.x]

17 El Husseiny NM, Fahmy HM, Mohamed WA, Amin HH. Relationship between vitamin D and IL-23, IL-17 and macrophage chemoattractant protein-1 as markers of fibrosis in hepatitis C virus Egyptians. *World J Hepatol* 2012; 4: 242-247 [PMID: 22993666]

18 Ladero JM, Torrejón MJ, Sánchez-Pobre P, Suárez A, Cuenca F, de la Orden V, Devesa MJ, Rodrigo M, Estrada V, López-Alonso G, Agúndez JA. Vitamin D deficiency and vitamin D therapy in chronic hepatitis C. *Ann Hepatol* 2013; 12: 199-204 [PMID: 23396730]

19 Kitson MT, Dore GJ, George J, Button P, McCaughan GW, Crawford DH, Sievert W, Weltman MD, Cheng WS, Roberts SK. Vitamin D status does not predict sustained virologic response or fibrosis stage in chronic hepatitis C genotype 1 infection. *J Hepatol* 2013; 58: 467-472 [PMID: 23183524 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.11.017]

20 Bugianesi E, Moscatiello S, Ciaravella MF, Marchesini G. Insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. *Curr Pharm Des* 2010; 16: 1941-1951 [PMID: 20370677]

21 Stein EM, Strain G, Sinha N, Ortiz D, Pomp A, Dakin G, McMahon DJ, Bockman R, Silverberg SJ. Vitamin D insufficiency prior to bariatric surgery: risk factors and a pilot treatment study. *Clin Endocrinol* (Oxf) 2009; 71: 176-183 [PMID: 19018785 DOI: 10.1111/j.1365-2265.2008.03470.x]

22 Boucher BJ. Serum vitamin D concentrations and unexplained elevation in ALT among US adults. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 2499; author reply 2499-2500 [PMID: 21656180 DOI: 10.1007/s10620-011-1768-x]

23 Vaidya A, Williams JS, Forman JP. The independent association between 25-hydroxyvitamin D and adiponectin and its relation with BMI in two large cohorts: the NHS and the HPFS. *Obesity* (Silver Spring) 2012; 20: 186-191 [PMID: 21760630 DOI: 10.1038/oby.2011.210]

24 Kitson MT, Roberts SK. D-livering the message: the importance of vitamin D status in chronic liver disease. *J Hepatol* 2012; 57: 897-909 [PMID: 22634121 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.04.033]

25 Li L, Zhang L, Pan S, Wu X, Yin X. No Significant Association Between Vitamin D and Nonalcoholic Fatty Liver Disease in a Chinese Population. *Dig Dis Sci* 2013 Apr 16. *[Epub ahead of print]* [PMID: 23589141]

26 Selmi C, Mayo MJ, Bach N, Ishibashi H, Invernizzi P, Gish RG, Gordon SC, Wright HI, Zweiban B, Podda M, Gershwin ME. Primary biliary cirrhosis in monozygotic and dizygotic twins: genetics, epigenetics, and environment. *Gastroenterology* 2004; 127: 485-492 [PMID: 15300581]

27 Adorini L. Vitamin D receptor polymorphisms in primary biliary cirrhosis: a functional connection? *J Hepatol* 2009; 50: 1071-1073 [PMID: 19398232 DOI: 10.1016/j.jhep.2009.03.005]

28 L Ng KV, Nguyễn LT. The role of vitamin d in primary biliary cirrhosis: possible genetic and cell signaling mechanisms. *Gastroenterol Res Pract* 2013; 2013: 602321 [PMID: 23589715 DOI: 10.1155/2013/602321]

29 Tanaka A, Nezu S, Uegaki S, Kikuchi K, Shibuya A, Miyakawa H, Takahashi S, Bianchi I, Zermiani P, Podda M, Ohira H, Invernizzi P, Takikawa H. Vitamin D receptor polymorphisms are associated with increased susceptibility to primary biliary cirrhosis in Japanese and Italian populations. *J Hepatol* 2009; 50: 1202-1209 [PMID: 19376604 DOI: 10.1016/j.jhep.2009.01.015]

30 Kempińska-Podhorecka A, Wunsch E, Jarowicz T, Raszeja-Wyszomirska J, Loniewska B, Kaczmarczyk M, Milkiewicz M, Milkiewicz P. Vitamin d receptor polymorphisms predispose to primary biliary cirrhosis and severity of the disease in polish population. *Gastroenterol Res Pract* 2012; 2012: 408723 [PMID: 22690210 DOI: 10.1155/2012/408723]

31 Lin WY, Wan L, Tsai CH, Chen RH, Lee CC, Tsai FJ. Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with risk of Hashimoto's thyroiditis in Chinese patients in Taiwan. *J Clin Lab Anal* 2006; 20: 109-112 [PMID: 16721822]

32 Fan L, Tu X, Zhu Y, Zhou L, Pfeiffer T, Feltens R, Stoecker W, Zhong R. Genetic association of vitamin D receptor polymorphisms with autoimmune hepatitis and primary biliary cirrhosis in the Chinese. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20: 249-255 [PMID: 15683428]

33 Lim LY, Chalasani N. Vitamin d deficiency in patients with chronic liver disease and cirrhosis. *Curr Gastroenterol Rep* 2012; 14: 67-73 [PMID: 22113744 DOI: 10.1007/s11894-011-0231-7]

34 Ruiz-Gaspà S, Martinez-Ferrer A, Guañabens N, Dubreuil M, Peris P, Enjuanes A, Martinez de Osaba MJ, Alvarez L, Monegal A, Combalia A, Parés A. Effects of bilirubin and sera from jaundiced patients on osteoblasts: contribution to the development of osteoporosis in liver diseases. *Hepatology* 2011; 54: 2104-2113 [PMID: 21837749 DOI: 10.1002/hep.24605]

35 Falleti E, Bitetto D, Fabris C, Cussigh A, Fontanini E, Fornasiere E, Fumolo E, Bignulin S, Cmet S, Minisini R, Pirisi M, Toniutto P. Vitamin D receptor gene polymorphisms and hepatocellular carcinoma in alcoholic cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 3016-3024 [PMID: 20572305]

36 Chiang KC, Yeh CN, Chen MF, Chen TC. Hepatocellular carcinoma and vitamin D: a review. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26: 1597-1603 [PMID:

21880026 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06892.x]
37 Nonaka K, Onizuka S, Ishibashi H, Uto Y, Hori H, Nakayama T, Matsuura N, Kanematsu T, Fujioka H. Vitamin D binding protein-macrophage activating factor inhibits HCC in SCID mice. *J Surg Res* 2012; 172: 116-122 [PMID: 20855083 DOI: 10.1016/j.jss.2010.07.057]
38 Hammad LN, Abdelraouf SM, Hassanein FS, Mohamed WA, Schaalan MF. Circulating IL-6, IL-17 and vitamin D in hepatocellular carcinoma: Potential biomarkers for a more favorable prognosis? *J Immunotoxicol* 2013 Jan 25. *[Epub ahead of print]* [PMID: 23350952]
39 Venu M, Martin E, Saeian K, Gawrieh S. High prevalence of vitamin A deficiency and vitamin D deficiency in patients evaluated for liver transplantation. *Liver Transpl* 2013; 19: 627-633 [PMID: 23495130 DOI: 10.1002/lt.23646]
40 Stein EM, Cohen A, Freeby M, Rogers H, Kokolus S, Scott V, Mancini D, Restaino S, Brown R, McMahon DJ, Shane E. Severe vitamin D deficiency among heart and liver transplant recipients. *Clin Transplant* 2009; 23: 861-865 [PMID: 19453643 DOI: 10.1111/j.1399-0012.2009.00989.x]
41 Yadav A, Carey EJ. Osteoporosis in chronic liver disease. *Nutr Clin Pract* 2013; 28: 52-64 [PMID: 23263929 DOI: 10.1177/0884533612470145]
42 Guañabens N, Parés A. Liver and bone. *Arch Biochem Biophys* 2010; 503: 84-94 [PMID: 20537977 DOI: 10.1016/j.abb.2010.05.030]
43 López-Larramona G, Lucendo AJ, González-Castillo S, Tenias JM. Hepatic osteodystrophy: An important matter for consideration in chronic liver disease. *World J Hepatol* 2011; 3: 300-307 [PMID: 22216370 DOI: 10.4254/wjh.v3.i12.300]
44 Guañabens N, Parés A. Management of osteoporosis in liver disease. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2011; 35: 438-445 [PMID: 21546334 DOI: 10.1016/j.clinre.2011.03.007]
45 El-Maouche D, Mehta SH, Sutcliffe CG, Higgins Y, Torbenson MS, Moore RD, Thomas DL, Sulkowski MS, Brown TT. Vitamin D deficiency and its relation to bone mineral density and liver fibrosis in HIV-HCV coinfection. *Antivir Ther* 2013; 18: 237-242 [PMID: 22910231 DOI: 10.3851/IMP2264]
46 Collier JD, Ninkovic M, Compston JE. Guidelines on the management of osteoporosis associated with chronic liver disease. *Gut* 2002; 50 Suppl 1: i1-i9 [PMID: 11788576]
47 Crawford BA, Labio ED, Strasser SI, McCaughan GW. Vitamin D replacement for cirrhosis-related bone disease. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2006; 3: 689-699 [PMID: 17130879]
48 Milazzo L, Mazzali C, Bestetti G, Longhi E, Foschi A, Viola A, Vago T, Galli M, Parravicini C, Antinori S. Liver-related factors associated with low vitamin D levels in HIV and HIV/HCV coinfected patients and comparison to general population. *Curr HIV Res* 2011; 9: 186-193 [PMID: 21585333]
49 Rahman AH, Branch AD. Vitamin D for your patients with chronic hepatitis C? *J Hepatol* 2013; 58: 184-189 [PMID: 22871501 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.07.026]
50 Cholongitas E, Theocharidou E, Goulis J, Tsochatzis E, Akriviadis E, Burroughs K. Review article: the extra-skeletal effects of vitamin D in chronic hepatitis C infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 35: 634-646 [PMID: 22316435 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2012.05000.x]
51 Trépo E, Ouziel R, Pradat P, Momozawa Y, Quertinmont E, Gervy C, Gustot T, Degré D, Vercruysse V, Deltenre P, Verset L, Gulbis B, Franchimont D, Devière J, Lemmers A, Moreno C. Marked 25-hydroxyvitamin D deficiency is associated with poor prognosis in patients with alcoholic liver disease. *J Hepatol* 2013 Apr 1. *[Epub ahead of print]* [PMID: 23557869]
52 Urashima M, Segawa T, Okazaki M, Kurihara M, Wada Y, Ida H. Randomized trial of vitamin D supplementation to prevent seasonal influenza A in schoolchildren. *Am J Clin Nutr* 2010; 91: 1255-1260 [PMID: 20219962 DOI: 10.3945/ajcn.2009.29094]

编辑 田滢 电编 闫晋利

■同行评价
本文总结了维生素D在CLD发病机制和治疗中的作用, 为临床研究和治疗提供新的思路. 具有较高的可读性, 能较好地反映国际该领域研究的先进水平.

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

本刊讯 2011-12-02, 中国科学技术信息研究所在北京发布2010年中国科技论文统计结果, 经过中国精品科技期刊遴选指标体系综合评价, 《世界华人消化杂志》被评为2011年度中国精品科技期刊. 中国精品科技期刊以其整体的高质量示范作用, 带动我国科技期刊学术水平的提高. 精品科技期刊的遴选周期为三年. (《世界华人消化杂志》编辑部)

世界华人消化杂志 2013年6月28日; 21(18): 1720-1725
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

中药抗结直肠癌作用的研究进展

周喜汉, 黄赞松, 向发良

■背景资料
中药在我国历史悠久, 而中医中药治疗结直肠癌的研究起步较晚, 尤其实验研究还不够深入, 虽然中药具有抗结直肠癌的作用, 比如: 抑制肿瘤细胞增殖、诱导凋亡、诱导肿瘤细胞自噬等, 但其机制并未明确阐明, 需我们进行大量的实验研究及临床实验进一步证实.

周喜汉, 黄赞松, 右江民族医学院消化疾病研究所附属医院消化内科 广西壮族自治区百色市 533000
向发良, 桂林医学院 广西壮族自治区桂林市 541000
周喜汉, 教授, 主任医师, 主要从事中药抗结肠癌的作用的研究.
广西自然科学基金资助项目, No. 桂科自0728248
广西医卫生厅重点课题基金资助项目, No. 桂卫重200988
作者贡献分布: 本文综述由周喜汉与向发良完成; 黄赞松审校.
通讯作者: 黄赞松, 教授, 主任医师, 533000, 广西壮族自治区百色市城乡路98号, 右江民族医学院.
huangzangsong@hotmail.com
收稿日期: 2013-04-18 修回日期: 2013-05-13
接受日期: 2013-05-25 在线出版日期: 2013-06-28

Anti-colorectal cancer effects of traditional Chinese herbal medicine: Research progress

Xi-Han Zhou, Zan-Song Huang, Fa-Liang Xiang

Xi-Han Zhou, Zan-Song Huang, Institute of Digestive Diseases, Affiliated Hospital of Youjiang Medical College for Nationalities, Baise 533000, Guangxi Zhuang Nationality Autonomous Region, China
Fa-Liang Xiang, Guilin Medical University, Guilin 541000, Guangxi Zhuang Nationality Autonomous Region, China
Supported by: the Guangxi Natural Science Foundation, No. 0728248; the Key Project of Foundation of Guangxi Health Department, No. 200988
Correspondence to: Zan-Song Huang, Professor, Chief Physician, Institute of Digestive Diseases, Affiliated Hospital of Youjiang Medical College for Nationalities, 98 Chengxiang Road, Baise 533000, Guangxi Zhuang Nationality Autonomous Region, China. huangzangsong@hotmail.com
Received: 2013-04-18 Revised: 2013-05-13
Accepted: 2013-05-25 Published online: 2013-06-28

Abstract
Colorectal cancer is a common malignant tumor of the digestive system, and its incidence has an upward trend in China. In recent years, the role of traditional Chinese herbal medicine in treatment of colorectal cancer has attracted the attention of researchers. Traditional Chinese medicine exerts anti-colorectal cancer effects by inhibiting tumor cell proliferation and migration, inducing cell apoptosis and autophagy, reducing telomerase activity and vascular endothelial growth factor production, and arresting cell cycle progression. This paper summarizes the progress in research of anti-colorectal cancer effects of traditional Chinese herbal medicine in terms of mechanisms of action and clinical applications.

■同行评议者
王来友, 副教授, 广东药学院中医药研究院; 魏睦新, 教授, 南京医科大学第一附属医院

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Colorectal cancer; Traditional Chinese herbal medicine; Mechanism; Experimental research; Clinical research

Zhou XH, Huang ZS, Xiang FL. Anti-colorectal cancer effects of traditional Chinese herbal medicine: Research progress. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(18): 1720-1725 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1720.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i18.1720

摘要
大肠癌是常见的消化系恶性肿瘤之一, 其发病率在我国呈逐年上升趋势. 近年来, 中药治疗大肠癌已受到研究者的关注. 研究发现, 中药具有抗结肠癌的作用, 主要通过抑制肿瘤细胞增殖、促进细胞凋亡、抑制端粒酶活性、阻滞细胞周期进展、抑制结肠癌血管内皮生长因子形成、诱导结肠癌细胞自噬、抑制结肠癌细胞迁移等多种途径. 本文就中药抗大肠癌的作用机制、实验研究及临床应用进行综述.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 大肠癌; 中医中药; 作用机制; 实验研究; 临床研究

核心提示: 中药具有抗结直肠癌的作用, 可能通过抑制肿瘤细胞增殖、抑制端粒酶活性、抑制结肠癌血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor)形成、诱导结肠癌细胞自噬等途径, 为临床提供了理论基础.

周喜汉, 黄赞松, 向发良. 中药抗结直肠癌作用的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(18): 1720-1725 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1720.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i18.1720

0 引言
大肠癌包括直肠癌和结肠癌, 是临床上常见的消化系恶性肿瘤之一, 在全球发病率居于第3位[1], 受吸烟、体力活动过少、肥胖、食用红肉与加工后肉制品以及过度饮酒等因素影响, 大

肠癌发病率呈现上升趋势[2]. 大肠癌早期临床症状不明显, 早期诊断率低, 就诊时多为晚期, 已失去手术治疗的机会, 目前结肠癌的治疗多为综合治疗为主, 多采用中药联合化疗、放疗和手术. 中药在我国有着得天独厚的优势, 目前中药及其有效成分抗肿瘤的研究已成为一种趋势, 有多项研究表明, 中药及其有效成分可减轻患者痛苦, 提高生活质量, 减小患者瘤体大小, 同时能延长患者生存期[3,4]. 但是中药治疗大肠癌的作用机制尚未完全阐明, 本文就中药对大肠癌作用的研究作一综述.

1 中药及其有效成分对大肠癌的作用机制

1.1 *抑制结肠癌细胞的增殖* 肿瘤细胞的特性之一就是增殖失控, 肿瘤细胞不受宿主的神经、体液等机制调节, 也不受周围环境的影响, 出现自主的无限制的增殖, 抑制肿瘤细胞的增殖, 是进行抗肿瘤治疗的目的之一. 苦参碱是苦参根提取物中的一种成分, 我们研究发现[5]不同浓度的苦参碱能抑制结肠癌细胞SW1116细胞的增殖, 促进其凋亡, 其作用机制可能与上调Fas和Bax mRNA表达有关. 大蒜素是一类含巯的有机物, 刘扬清等[6]采用MTT法检测大蒜素对Lovo细胞增殖抑制能力, 结果发现大蒜素可抑制人结肠癌Lovo细胞增殖, 具有明显量效和时间依赖性, 王旭平等[7]研究发现大蒜素对结肠癌细胞HT-29细胞的增殖也有不同程度的抑制作用, 同时减低癌基因蛋白Bcl表达, 促进抑癌基因*Bax*的表达. 槲皮素对人结肠癌SW-480细胞的增殖有抑制作用, 且能诱导SW-480细胞凋亡, 是一种高效低毒的药物[8]. 周阿成等[9]观察洋葱水提取物和乙醇提取物黄酮类化合物对结肠癌细胞株增殖的抑制作用, 发现对体外培养的结肠癌细胞株的增殖有明显抑制作用. 纪朋艳等[10]发现蛹草虫提取物对结肠癌细胞株SW111C的增殖有抑制作用, 并呈浓度和时间依赖性. 故中药能显著抑制结肠癌细胞的增殖, 从而抑制肿瘤生长.

1.2 *抑制端粒酶的活性* 端粒酶是合成端粒必需的酶, 该酶在人正常体细胞中没有活性, 而在所有类型的肿瘤中几乎均有不同程度的活性表达, 是目前已知的最广谱的恶性肿瘤的标志[11]. 关文明等[12]采用体外培养结肠癌Lovo细胞, 分别应用四唑盐比色试验、端粒重复扩增微孔板杂交法、RT-PCR和Western blot方法检测环氧化酶-2 mRNA和蛋白水平的表达, 结果发现, 大蒜素能够抑制端粒酶活性, 且这种作用呈浓度及时间依赖. 周喜汉等[13]为探讨苦参碱对人结肠癌SW1116细胞增殖和端粒酶活性的影响, 采用MTT法检测细胞增殖抑制率, TRAP-ELISA测端粒酶活性, RT-PCR法检测hTERT mRNA表达, 结果发现苦参碱能显著抑制抑制SW1116细胞端粒酶活性, 从而抑制SW1116细胞增殖. 徐丹等[14]研究发现大肠癌细胞株CCL-187经三氧化二砷处理后, 细胞端粒酶hTERT-m/CNA的基因表达下调, 从而端粒酶的活性受到抑制. 同时吴茱萸碱和盐酸小檗碱能下调结肠癌HT29细胞端粒酶*hTERT*基因表达, 从而降低端粒酶的活性[15]. 故中药通过抑制端粒酶的活性, 可使肿瘤细胞进一步生长.

1.3 *促进结肠癌细胞凋亡* 细胞凋亡又称细胞程序性死亡, 是有核细胞在受到生理或病理信号刺激后通过启动凋亡诱导途径, 使凋亡细胞呈现典型的形态学和生物化学特征. 近年来研究表明, 中药作用肿瘤细胞发生凋亡可能与癌基因及抑癌基因的异常表达有关, 如: Bcl-2与Bax, 其的比例决定细胞凋亡程度[16]. 廖新明等[17]研究发现辣椒素能显抑制人结肠癌SW-480细胞生长, 诱导结肠癌SW-480细胞凋亡, 其主要作用机制可能是癌细胞内Bax蛋白表达上调, 而Bcl-2蛋白表达降低, 下调Bcl-2/Bax比例, 诱导细胞凋亡, 同时能[18]下调SW-480细胞HSP27表达、上调Casepase3及Casepase9表达, 而起到诱导细胞凋亡、抑制细胞生长的肿瘤抑制作用. 付蕾等[19]研究叶黄素对结肠癌HT29细胞的增殖抑制作用及可能的机制中发现, 叶黄素可显著抑制HT-29细胞的增殖并诱导其凋亡. 侯波等[20]研究发现, 槲皮素能诱导结肠癌细胞Lovo细胞凋亡, 并呈浓度依赖性, 其作用机制可能为抑制Bcl-2蛋白的表达, 增强P53、Bax及Caspase3的活性. 王小兵等[21]通过观察三氧化二砷术前短期内化疗对大肠癌细胞分子生物学的影响, 发现三氧化二砷短期体内化疗可以诱导大肠癌细胞凋亡, 其可能通过下调Bcl-2蛋白表达实现的. 故中药可能通过调节癌基因与抑癌基因的表达, 促进肿瘤细胞凋亡.

1.4 *阻滞结肠癌细胞周期的进程* 细胞周期指细胞从上一次有丝分裂结束到下一次有丝分裂完成所经历的整个连续过程. 真核细胞周期过程为G_1-S-G_2-M期, 循环往复. 任何一个时期受阻均可阻滞细胞进程. 有多项研究表明, 中药能阻滞大肠癌细胞于不同时期, 从而阻滞细胞周期的进程, 阻断癌前病变的进展, 抑制癌细胞的增殖,

■研发前沿
中药及其有效成分抗结肠癌机制的研究是当前研究的热点, 需行大量的实验研究及临床研究进一步了解中药作用大肠癌的机制及其效应.

■创新盘点
本文概括了中药及其有效成分对结肠癌的作用机制.

从而起到抗癌作用: 天花粉蛋白[22]能将结肠癌细胞SW-1116阻滞于G_1期, 白藜芦醇[23]能将SW-480细胞阻滞于S期, 猫爪草皂苷[24]能升高细胞内Ca^{2+}水平, 阻滞Lovo细胞于S/G_2期, 杨平等[25]研究发现藤黄酸能够明显抑制人结肠癌细胞株SW-480的增殖, 并将SW-480细胞阻滞于G_2/M期, 其作用机制可能与抑制VEGFR2表达有关.

1.5 抑制结肠癌的血管内皮生长因子的形成 新生血管形成是恶性肿瘤生长和转移中的重要病理过程, 而血管内皮细胞(vascular endothedial cell, VEC)的增殖是新生血管形成的基础. 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)能诱导肿瘤新生血管的形成, 促进内皮细胞增殖, 增加新生血管管壁通透性, 利于肿瘤细胞脱落、进入血管或侵犯邻近组织, 为肿瘤的生长、浸润、转移创造条件[26,27]. 吴迪等[28]研究发现人参皂苷Rg3能够抑制裸鼠结肠癌的生长, 其抑瘤作用可能是通过抑制肿瘤新生血管形成来抑制肿瘤生长. 杨丕等[29]为观察参一胶囊对结肠癌患者血清VEGF的影响, 发现参一胶囊有降低结肠癌患者血清VEGF水平的作用.

1.6 诱导结肠癌细胞自噬 自噬是细胞利用溶酶体降解自身受损的细胞器和大分子的过程, 是真核细胞特有的生命现象, 在一定条件下自噬对维持细胞的存活有积极作用. 然而, 过度的自噬可以导致细胞的程序性死亡, 即Ⅱ型程序性细胞死亡. 在细胞自噬过程中, 细胞通过双层细胞膜包裹待降解物而形成自噬体(autophagosome), 然后被送到溶酶体形成自噬溶酶体, 从而降解高尔基体、多聚核糖体等细胞器及大分子, 继而导致细胞核的破坏[30-32]. Xie等[33]在人结肠癌细胞HT-29、Caco-2中发现, 蟾毒灵对肿瘤细胞的凋亡无明显促进作用, 但可以促进结肠癌细胞自噬, 同时可促进结肠癌细胞ROS产生, 从而导致结肠癌细胞的死亡. 云芝三萜提取物[34]可以抑制结肠癌细胞HT-29细胞的增殖, 抑制p38 MAPK表达及磷酸化, 促Beclin-1、LC-3表达, 诱导结肠癌细胞HT-29细胞自噬.

1.7 抑制结肠癌细胞迁移 癌细胞的迁移是肿瘤发生转移的重要途径, 发生转移的肿瘤提示预后不良, 能采取的治疗措施有限, 故控制肿瘤细胞的侵袭扩散, 切断肿瘤由局部性病变向全身病变的过程是目前治疗肿瘤的重要手段之一. 杜卫东等[35]为研究人参皂苷R93对结肠癌细胞株HT-29基质金属蛋白酶-1(matrix metalloproteinases-1, MMP-1)表达和细胞迁移能力的影响, 采用体外培养HT-29细胞, RT-PCR法测MMP-1 mRNA表达, 发现人参皂苷Rg3能抑制HT-29细胞MMP-1的表达和抑制HT-29细胞的迁移能力, 并且随着药物浓度的增加及时间的延长, 抑制作用增强. 中药能抑制结肠癌细胞的迁移控制肿瘤细胞扩散, 从而延缓患者病情进展.

2 中药抗结肠癌作用的实验研究

2.1 体外实验研究 近年来许多研究表明, 多种中药对结肠癌细胞的增殖有抑制作用, 促进其凋亡, 从而起抗肿瘤作用. 李暐等[36]采用体外培养结肠癌细胞SW-48, 用不同浓度的山柰酚作用SW-48细胞, 结果显示, 山柰酚能显著抑制细胞增殖, 其机制可能为上调p53蛋白表达量和磷酸化程度, 改变Bcl-2与Bax的蛋白含量比例. 梁磊等[37]在研究苦豆子生物碱时候发现, 槐定碱对结肠腺癌细胞株SW620的生长有显著抑制, 并促进肿瘤凋亡, 且呈时间一剂量依赖性, 其中以槐定碱促进凋亡作用最为明显. 陈小兵等[38]观察了靛玉红甲肟对体外结肠癌细胞株HT-29的生长、增殖、凋亡和*Bcl-2*和*Bax*基因的表达的作用, 结果显示, 靛玉红甲肟能增加survivin和Bax转录, 显著降低Bcl-2转录, 下调Bcl-2/Bax比例, 诱导细胞凋亡.

2.2 体内实验研究 为进一步明确中药对大肠癌的作用, 许多肿瘤研究者采用种植大肠癌细胞于裸鼠复制大肠癌模型, 研究中药对鼠肠癌的作用, 发现不同中药对体内肿瘤的抑制有所区别. 战晓农等[39]观察双氢青蒿素(dihydroartemisinine, DHA)对结直肠癌模型动物肿瘤生长的影响, 用SPF级Balb/c裸鼠, 背部皮下接种结直肠癌Lovo细胞悬液, 建立结直肠癌模型, 5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-Fu)20 mg/kg作为阳性对照组, DHA高、中、低剂量灌胃给药, 14 d后, 检测活体肿瘤及解剖剥离后裸瘤体积、平均瘤体质量、肿瘤生长速率和抑瘤率. 结果发现, 治疗后DHA各给药组活体肿瘤的体积及肿瘤生长速率均减少, 与模型组比较差异有显著性意义(P<0.01), 提示DHA对直肠癌模型动物肿瘤生长具有一定的抑制作用, 同时还发现[40]5-Fu组和DHA高剂量组Bcl-2的阳性表达率显著低于模型对照组(P<0.01或P<0.05); 5-Fu组VEGF的阳性表达率显著低于模型对照组(P<0.05). 也有研究者[41]采用复方参七汤治疗裸鼠大肠癌肝转移, 发现复方参七汤可显著降低肝转移裸鼠血中CK20 mRNA表达, 抑制裸鼠结肠癌肝转移的发生及发

展. 也有研究者[42]发现老鹳草提取物可显著降低肝转移裸鼠血中pS2表达, 抑制裸鼠结肠癌肝转移的发展, 可作为大肠癌术后预防复发和肝转移的治疗手段之一.

3 中药对大肠癌的临床研究

目前在临床上治疗大肠癌的方式有手术治疗、化学治疗、放疗、中医中药治疗, 由于结肠癌患者就诊时已多为中晚期, 主张手术治疗联合化疗、放疗及中药综合治疗. 研究发现各种治疗手段配合中医中药治疗, 能延长患者生存期, 减低肿瘤复发, 减轻放化疗不良反应, 改善生存质量.

3.1 中药联合手术治疗减少肿瘤复发转移、提高生存质量、增加患者免疫功能 目前大肠癌的治疗方式一手术治疗为主的综合治疗, 手术切除原发病灶, 中药辅助辨证治疗. 根据程二文等[43]研究者的治疗经验, 提示中药口服及灌肠应用于结直肠癌手术前后, 可制肿瘤生长, 提高机体免疫力, 改善症状, 抗转移及加强手术的成功率. 雒琳等[44]为探讨在Ⅱ、Ⅲ期大肠癌根治术及常规化疗放疗后应用中药扶正胶囊和祛邪胶囊减少复发转移的临床价值. 采用前瞻性队列研究设计, 研究结果发现, 扶正胶囊和祛邪胶囊在根治术后Ⅱ、Ⅲ期大肠癌的后续巩固治疗中可能有减少复发转移, 改善生活质量的作用, 值得进一步进行随机对照临床研究. 张宝南等[45]研究发现中药抗癌剂鸦胆子油行肝动脉化疗栓塞术(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)能改善大肠癌肝转移的生存质量、同时增加患者的耐受性. 有学者[46]动态观察艾迪注射液对大肠癌术后早期机体的免疫功能, 结果发现艾迪注射液可迅速提高大肠癌术后早期机体的细胞免疫和体液免疫. 黄芪注射液联合IL-2可以用于大肠癌患者手术化疗后免疫功能低下的治疗[47].

3.2 中药联合化疗减轻其不良反应 化疗是大肠癌治疗的主要手段之一, 但90%肿瘤患者初次化疗都会出现恶心、呕吐、疲乏等症状, 长期化疗可出现白细胞降低, 免疫力低下等表现. 近年来不少临床研究证实, 中药与化疗相结合, 可防治恶性肿瘤化疗的不良反应, 提高患者生活质量, 减轻患者痛苦, 延长生存期[48-50]. 陆清昀[51]采用对已确诊的大肠癌40例随机分为治疗组20例, 对照组20例. 其中治疗组采用扶正抗癌方联合化疗, 于化疗间歇期服用, 观察周期为6 wk. 化疗方案为mFOLFOX, 化疗进行2个周期, 共6 wk. 对照组单纯化疗, 其化疗方案, 具体药物及用量用法同治疗组. 发现扶正抗癌方能够改善大肠癌患者的细胞免疫及体液免疫功能, 有利于机体的康复, 患者的生活质量明显得到改善. Su[52]研究发现丹参醌-ⅡA(丹参提取物, C19H18O3)能增强5-Fu对结肠癌的化疗作用, 同时下调P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)和微管相关蛋白LC3-Ⅱ[light chain 3(LC3)-Ⅱ, 轻链3-Ⅱ]的表达. 丁蓉等[53]研究发现康莱特注射液联合FOLFOX4方案治疗晚期大肠癌能够有效改善患者体力状况, 提高免疫功能, 减轻化疗不良反应.

3.3 中药灌肠联合化疗延长生存期 中药保留灌肠是直接通过直肠, 药效不受消化系等诸多因素的影响, 可直接作用于创面而起到抑瘤、杀瘤、止痛等作用, 且操作方便, 无创伤、无不良反应, 有利于患者康复, 故大肠癌经肛门直肠给药治疗越来越被临床所重视. 杨曦[54]报道了一项中药灌肠联合化疗治疗晚期大肠癌的临床观察. 该试验将43例晚期大肠癌患者分为化疗加中药煎剂保留灌肠序贯治疗组(治疗组)和单纯西药化疗组(对照组), 治疗组及对照组的化疗方案均采用FOLFOX方案, 中药灌肠采用清热解毒, 化瘀止血之功效的中药, 观察两组临床疗效和患者的耐受性. 结果治疗组近期有效率、KPS评分改善率、中位缓解期均高于对照组, 而周围神经毒性和消化系反应治疗组较低, 其余不良反应两组相似. 提示中药灌肠联合化疗明显改善了患者的生活质量, 延长生存期且实施方便. 赵兴家等[55]观察中药保留灌肠结合放化疗对Ⅲ期直肠癌患者的疗效与不良反应发现, 中药保留灌肠结合放、化疗, 能明显缩小病灶, 达到降期的目的, 以进一步提高Ⅲ期直肠癌患者的手术切除率, 降低复发率, 缩短了等待手术的时间. 同时中药可减轻局部放、化疗的不良反应.

4 结论

众所周知, 中药在我国历史悠久, 而中医中药治疗结直肠癌的研究起步较晚, 尤其实验研究还不够深入, 虽然中药具有抗结直肠癌的作用, 比如: 抑制肿瘤细胞增殖、诱导凋亡、诱导肿瘤细胞自噬等, 但其机制并未明确阐明, 需我们进一步行大量的实验研究及临床实验进一步证实. 并且就目前研究中药抗结直肠癌的作用机制主要局限于对具有抗癌活性的中药提取物的研究, 然而药物配伍及复方制剂是中药治疗肿瘤的主要途径, 我们需进一步研究中药的药理作用及

■应用要点
本文总结了中药及其有效成分对结肠癌的作用机制, 为中药在实验研究及临床研究提供理论依据.

■同行评价
本文中药抗结直肠癌的作用机制渠道对临床有一定的指导意义.

其抗结肠癌的作用机制, 进行药物配伍及制作中药复方剂, 从而能更好服务于临床. 因此, 在今后的工作中, 需加强中药抗结肠癌的临床研究与实验研究的联系, 体内试验与体外实验的联系, 从分子水平到基因水平探索中药抗结直肠癌机制的实验研究, 筛选出更为有效的中药及复方制剂, 从而能使中药有效运用于临床.

5 参考文献

1 Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108 [PMID: 15761078]
2 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855]
3 李克桑, 李琦. 中医药防治大肠癌临床研究. 辽宁中医杂志 2012; 39: 953-955
4 杨宇飞, 陈崭新, 许云, 吴煜, 吴显文, 朱尧武, 李培红, 高书棣. 祛邪胶囊对晚期结直肠癌患者生存期和生活质量的随机对照研究. 中国中西医结合杂志 2008; 28: 111-116
5 周喜汉, 韦星, 黄赞松, 岑朝, 尹毅霞, 覃月秋, 苏倩波. 苦参碱诱导人结肠癌SW1116细胞凋亡及机制探讨. 山东医药 2008; 48: 19-20
6 刘扬清, 高勇, 万一元, 易竹筠, 惠红霞, 徐丽娟, 刘华. 大蒜素对结肠癌LoVo细胞增殖的影响. 临床肿瘤学杂志 2009; 14: 139-142
7 王旭平, 赵玲, 王容, 郭锋, 辛华. 大蒜索对人结肠癌HT-29细胞增殖影响及作用机制研究. 中国现代普通外科进展 2007; 10: 306-309
8 林增海, 马涛, 孟勇. 槲皮素对人结肠癌SW-480细胞增殖的抑制作用. 实用医学杂志 2012; 28: 699-671
9 周阿成, 金黑鹰, 谈瑄忠, 钱晓磊, 张春霞, 何勇山, 王水明. 洋葱提取物对结肠癌细胞增殖的抑制作用. 世界华人消化杂志 2011; 19: 2011-2015
10 纪朋艳, 罗速, 姜艳霞. 蛹虫草提取物对人结肠癌细胞SW111C抑制作用的研究. 重庆医学 2012; 41: 61-63
11 邱景山, 康健. 苦参碱诱导肿瘤细胞凋亡的研究进展. 辽宁医学杂志 2007; 21: 117-119
12 关文明, 范钰, 林庚金, 钱立平, 许祖德, 黄富春. 大蒜素对结肠癌Lovo细胞端粒酶活性、环氧化酶-2及核因子-JB的影响. 复旦学报(医学版) 2004; 31: 597-599
13 周喜汉, 韦星, 黄赞松, 岑朝, 尹毅霞, 覃月秋, 苏倩波. 苦参碱诱导人结肠癌SW1116细胞增殖和端粒酶活性的影响. 中药材 2009; 32: 923-925
14 徐丹, 杨幼林, 徐洪雨, 于刘宏. 三氧化二砷和顺铂对大肠癌细胞端粒酶活性及细胞凋亡的影响. 中国现代医学杂志 2008; 18: 1633-1637
15 常金荣, 陈蔚文, 王建华. 吴茱萸碱和盐酸小檗碱对大肠癌HT29细胞端粒酶活性的影响. 辽宁中医杂志 2011; 38: 1326-1329
16 Xu J, Zhou M, Ouyang J, Wang J, Zhang Q, Xu Y, Xu Y, Zhang Q, Xu X, Zeng H. Gambogic acid induces mitochondria-dependent apoptosis by modulation of Bcl-2 and Bax in mantle cell lymphoma JeKo-1 cells. *Chin J Cancer Res* 2013; 25: 183-191 [PMID: 23592899 DOI: 10.3978/j.issn.1000-9604]
17 廖新明, 李兴红, 陈志芬. 辣椒素对人结肠癌SW-480生长及Bcl 2/Bax表达的影响. 实用医院临床杂志 2007; 4: 39-42
18 黄崇杰, 姜爱琴, 刘长宝. 辣椒素诱导HSP27高表达结肠癌SW-480细胞凋亡机制. 中国中西医结合外科杂志 2012; 18: 584-589
19 付蕾, 陈晓哲, 张慧娟, 张源渊, 王凌飞, 徐少博, 张玉杰, 王明臣. 叶黄素对人结肠癌HT29细胞增殖的抑制及其机制. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1239-1244
20 侯波, 裴锐铮, 韩雪梅. 槲皮素诱导人结肠癌loVo细胞凋亡及其机制的研究. 中国老年学杂志 2009; 29: 2776-2778
21 王小兵, 杨幼林. 三氧化二砷体内化疗对大肠癌细胞凋亡及凋亡调控基因表达的影响. 黑龙江医学 2011; 35: 645-649
22 王英俊. 天花粉蛋白对结肠癌细胞株SW-lll6凋亡的影响. 中国现代医生 2007; 45: 15-23
23 刘敏, 孟勇, 马清涌, 刘衍晟. 白藜芦醇对人结肠癌SW-480瘤株作用的研究.现代肿瘤学 2006; 14: 524-526
24 周清安, 余海滨. 猫爪草皂苷对结肠癌LoVo细胞凋亡和细胞内Ca2 浓度的影响. 河南中医学院学报 2009; 24: 29-30
25 杨平, 曹杰, 张通, 王强, 孙政, 张伟健, 曾山崎. 藤黄酸对人结肠癌SW-480细胞增殖及VEGFR2表达的影响. 中国中药基础医学杂志 2012; 18: 520-522
26 Aldebasi YH, Rahmani AH, Khan AA, Aly SM. The effect of vascular endothelial growth factor in the progression of bladder cancer and diabetic retinopathy. *Int J Clin Exp Med* 2013; 6: 239-251 [PMID: 23641300]
27 邢涛, 刘红耀, 闫鹏, 王志华. MMP-2、COX-2与VEGF在膀胱移行细胞癌中的表达及临床意义. 中国现代医生 2010; 8: 12-14
28 吴迪, 邹青峰, 马磊, 彭美芳. 人参皂苷Rg3联合化疗抑制大肠癌生长的实验研究. 湖南中医杂志 2008; 24: 96-98
29 杨丕, 汤海轮, 陈笑雷. 参一胶囊对结肠癌患者血清血管内皮生长因子的影响. 临床急诊杂志 2008; 9: 44-45
30 Coates JM, Galante JM, Bold RJ. Cancer therapy beyond apoptosis: autophagy and anoikis as mechanisms of cell death. *J Surg Res* 2010; 164: 301-308 [PMID: 20031162]
31 Gasparini R, Panatto D. Meningococcal glycoconjugate vaccines. *Hum Vaccin* 2011; 7: 170-182 [PMID: 21178398]
32 Giuliani CM, Dass CR. Autophagy and cancer: taking the 'toxic' out of cytotoxics. *J Pharm Pharmacol* 2013; 65: 777-789 [PMID: 23647671]
33 Xie CM, Chan WY, Yu S, Zhao J, Cheng CH. Bufalin induces autophagy-mediated cell death in human colon cancer cells through reactive oxygen species generation and JNK activation. *Free Radic Biol Med* 2011; 51: 1365-1375 [PMID: 21763418]
34 Thyagarajan A, Jedinak A, Nguyen H, Terry C, Baldridge LA, Jiang J, Sliva D. Triterpenes from Ganoderma Lucidum induce autophagy in colon cancer through the inhibition of p38 mitogen-activated kinase (p38 MAPK). *Nutr Cancer* 2010; 62: 630-640 [PMID: 20574924 DOI: 10.1080/01635580903532390]
35 杜卫东, 屠巍巍, 华晨. 人参皂苷R93对HT-29细胞株MMP-1表达和迁移能力的影响. 中国中西医结合外科杂志 2009; 15: 544-546
36 李暐, 杜秉娜, 张蛎, 张景海. 山柰酚对人结肠癌SW48细胞增殖的抑制作用.沈阳科大学学报 2009; 26: 727-730
37 梁磊, 张绪慧, 王晓燕, 陈艳, 邓虹珠. 槐定碱对人结肠腺癌细胞株SW620增殖和凋亡的影响. 中国药理学通报 2008; 24: 782-787
38 陈小兵, 张军辉, 董文杰, 曹新广, 罗素霞, 索振河. 靛玉红甲肟对HT-29细胞增殖和凋亡的影响及机制. 中国癌症杂志 2009; 9: 503-506
39 战晓农, 余卫华, 刘恋, 黄燕, 王雷, 赵学军, 李国桥. 双氢青蒿素干预结直肠癌模型动物肿瘤生长的实验研

究. 广州中医药大学学报 2009; 26: 465-469
40 战晓农, 黄燕, 王雷, 梁志, 李智. 双氢青蒿素对人结直肠癌裸鼠移植瘤的抑制作用及机制研究 2011; 22: 491-494
41 陈瑞新,徐青,于秀, 陈玉泉, 沈洪熏. 复方参七汤对人结肠癌细胞株裸鼠肝转移影响. 鄂阳医学院学报 2006; 25: 343-348
42 黄国栋, 游宇, 黄媛华, 唐丽君, 杨治芳, 徐龙, 黄道富, 肖美珍. 老鹳草提取物对人结肠癌细胞株裸鼠肝转移的影响. 中药材 2009; 32: 97-99
43 程二文, 丁屹立. 应用中药对直肠Ca围手术期的辅助治疗. 首届国际中西医结合大肠肛门病学术论坛暨第十二届全国中西医结合大肠肛门病学术会议, 2007
44 雒琳, 杨宇飞, 李培红, 吴煜, 张建伟, 吴显文, 高书棣, 刘端琪. 中药扶正胶囊和祛邪胶囊减少Ⅱ、Ⅲ期大肠癌术后复发转移的队列研究. 中国中西医结合杂志 2006; 26: 677-680
45 张宝南, 尤建良. 鸦胆子油行TACE术改善大肠癌肝转移生存质量研究. 辽宁中医杂志 2008; 35: 84
46 侯冰宗, 舒晓春, 周少朋, 房思炼, 李霄凌. 中药艾迪注射液对大肠癌术后机体免疫功能的影响. 第四军医大学学报 2008; 29: 933-935
47 沈克平, 胡兵, 张晖, 周浩, 顾贤, 潘传芳, 祝利民, 阮广欣. 黄芪注射液联合IL-2改善大肠癌患者免疫功能研究. 中药药理与临床 2008; 24: 99-101
48 张四方, 何明大, 朱伟光, 李灿, 胡春宏, 周旭辉, 陈海辉. 中药干预对结肠癌化疗患者生活质量影响的动态观察. 中国临床心理学杂志 2007; 15: 214-216
49 劳高权, 陈丰, 何小华, 施智严, 罗锦洪, 梁大荣, 陈剑基. 健脾解毒汤配合化疗治疗晚期大肠癌的临床研究. 中医临床研究 2012; 4: 1-3
50 张华堂, 方灿途, 黄振炎, 刘立文. 中医辨证配合化疗治疗晚期大肠癌31例近期疗效观察. 新中医 2008; 40: 22-23
51 陆清昀. 扶正抗癌方对大肠癌肿瘤患者免疫功能的影响. 浙江中医药大学学报 2010; 34: 688-670
52 Su CC. Tanshinone IIA potentiates the efficacy of 5-FU in Colo205 colon cancer cells in vivo through downregulation of P-gp and LC3-II. *Exp Ther Med* 2012; 3: 555-559 [PMID: 22969929 DOI: 10.3892/etm.2011.441]
53 丁蓉, 霍介格, 张玉, 樊敏. 康莱特注射液联合FOLFOX4方案治疗晚期大肠癌20例. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2851-2854
54 杨曦. 化疗加中药灌肠治疗晚期大肠癌临床观察. 中国肛肠病杂志 2006; 26: 13-15
55 赵兴家, 赵海云, 孙伟明, 赵永生, 姚福全. 中药治疗Ⅲ期直肠癌疗效观察. 中国中医药 2012; 10: 8-11

编辑 田滢 电编 闫晋利

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

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775

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

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2013年6月28日; 21(18): 1726-1732
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

文献综述 REVIEW

直肠癌MRI功能和分子成像的研究进展

邢晓宏, 程英升

■背景资料
直肠癌由于早期诊断困难, 其发病率和死亡率逐年增加. 如何提高直肠癌早期诊断率是亟待解决的难题, 从分子代谢水平诊断疾病的发生发展则成为新的肿瘤早期诊断方法之一, 故分子影像逐渐受到广泛关注, 成为研究热点之一.

邢晓宏, 上海同济大学附属第十人民医院 上海市 200072
程英升, 上海交通大学附属第六人民医院 上海市 200233
邢晓宏, 在读硕士, 主要从事MRI分子影像在直肠癌早期诊断中的应用研究.
上海市科委基金资助项目, Nos. 10411953500, 11XD1404100, 10JC1412900
作者贡献分布: 本文综述由邢晓宏完成; 程英升负责审校.
通讯作者: 程英升, 教授, 200233, 上海市宜山路600号, 上海交通大学附属第六人民医院. cjr.chengysh@vip.163.com
电话: 021-24058068
收稿日期: 2013-04-07 修回日期: 2013-05-06
接受日期: 2013-05-19 在线出版日期: 2013-06-28

Magnetic resonance functional and molecular imaging for diagnosis of rectal cancer: Recent research advances

Xiao-Hong Xing, Ying-Sheng Cheng

Xiao-Hong Xing, Shanghai Tenth People's Hospital of Tongji University, Shanghai 200072, China
Ying-Sheng Cheng, Sixth People's Hospital of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China
Supported by: the Foundation of Shanghai Municipal Science and Technology Commission, Nos. 10411953500, 11XD1404100 and 10JC1412900
Correspondence to: Ying-Sheng Cheng, Professor, Sixth People's Hospital of Shanghai Jiaotong University, 600 Yishan Road, Shanghai 200233, China. cjr.chengysh@vip.163.com
Received: 2013-04-07 Revised: 2013-05-06
Accepted: 2013-05-19 Published online: 2013-06-28

Abstract
Colorectal cancer is one of the most common gastrointestinal malignant tumors in China. Because of the difficulties in early diagnosis, the incidence and mortality of colorectal cancer have been increasing year by year. Molecular and functional imaging plays an important role in detecting rectal cancer earlier and more specifically and reducing patients' mortality. In this paper we discuss the present and future applications of magnetic resonance molecular and functional imaging in the diagnosis of rectal tumors.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Rectal cancer; Diffusion-weighted imaging; Magnetic resonance perfusion imaging; Whole-body imaging; Molecular imaging

Xing XH, Cheng YS. Magnetic resonance functional and molecular imaging for diagnosis of rectal cancer: Recent research advances. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(18): 1726-1732 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1726.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i18.1726

摘要
结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是我国最常见的消化系恶性肿瘤之一, 由于早期诊断困难, 其发病率和死亡率逐年增加. 以磁共振为代表的功能和分子成像能对CRC进行更早期、更特异性的诊断, 从而降低患者死亡率. 本文就磁共振功能和分子功能成像在直肠肿瘤的应用现状及发展趋势进行综述.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 直肠癌; 磁共振弥散成像; 磁共振灌注成像; 全身成像; 分子影像

核心提示: 近年研究表明, 磁共振分子功能成像作为一种新的影像方法, 提高病变检出灵敏度和特异度的价值及潜力具有重要的临床意义, 但仍有许多问题尚待研究和完善.

邢晓宏, 程英升. 直肠癌MRI功能和分子成像的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21(18): 1726-1732 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1726.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i18.1726

0 引言
结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是常见的导致全球癌症相关死亡的肿瘤[1]. 在西方国家, 其发病率和死亡率居高不下[2]. 在东亚如中国、日本、韩国和新加坡CRC的发病率经历了2-4倍的增长[3]. 据我国国家癌症2003年的数据库, CRC已成为发病率最迅速升高的三大癌症之一[4], 65%的CRC位于直肠[3]. 尽管在过去的20年, 直肠癌的放射学分期方法, 病理分期及手术治疗有很大的进展, 但5年生存率始终徘徊50%-60%左右[5]. 造成高死亡率关键的是直肠癌术前评估, 其中早诊断、准确分期、判断何种外科手术以

■同行评议者
卢宁, 副主任医师, 兰州军区乌鲁木齐总医院肿瘤科; 许剑民, 教授, 上海市复旦大学附属中山医院普外科

及是否有必要进行综合治疗对直肠癌患者预后是至关重要的[6]. 磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)在明确直肠癌的诊断、确定系统治疗方案、监测预后等方面中都发挥了重要的作用, 是唯一一种能对直肠癌多个重要预后因素进行全面评估的影像学手段. 目前MRI功能成像研究热点主要集中在磁共振加权成像、灌注成像及全身成像. 近年来, 从分子代谢水平诊断疾病的发生发展则成为新的肿瘤早期诊断方法之一, 在某些肿瘤如胰腺癌的早期诊断取得很大突破[7], 因此磁共振分子功能成像作为一种新的影像方法, 提高病变检出灵敏度和特异度的价值及潜力具有重要的临床意义. MR分子成像主要集中在特异性分子探针的制备. 本文就以上各方面在直肠癌的影像诊断方面的现状与趋势展开叙述.

1 弥散加权成像

1.1 弥散加权成像在直肠癌诊断中的应用 弥散加权成像(diffusion-weighted imaging, DWI)是目前唯一能观察活体水分子微观运动的成像方法, 从分子水平反映人体组织的空间组成信息和病理生理状态变化. 水分子的运动特性可以通过表面弥散系数(apparent diffusion coefficient, ADC)表示, 弥散受限组织如细胞密集的肿瘤, 细胞外间隙减小, 布朗运动受到限制, 弥散速度较慢, DWI信号就相对较高, 但ADC值较低. Hosonuma等[8]曾报道直肠癌瘤体的ADC值低于直肠良性病变, 张瑞等[9]研究中直肠癌的ADC值低于对照组(正常直肠及直肠良性病变)的ADC值, 且用ROC曲线分别确定了不同b值(即弥散敏感梯度因子)对直肠癌诊断的最佳阈值1.856×10^{-3} mm^2/s、1.560×10^{-3} mm^2/s. 信号灵敏度取决于b值, b值越高, 由于水分子运动而信号衰减更大. 高b值的DWI图像信号有利于恶性肿瘤的定性并已显示出了更好检测(小)的恶性肿瘤, 例如在肝脏和前列腺肿瘤[10-12]. 文献报道当b值选择1000 s/mm^2是直肠癌扩散成像的较佳b值, 可以较好的克服灌注、T_2穿透效应对直肠癌扩散成像的影响, 准确反映组织的扩散特性[13]. 以往受呼吸运动、化学位移等因素影响制约了弥散成像在腹部的应用, DWI主要应用于中枢神经系统[14]. 目前, 已有关于肝脏、肾脏、胰腺等腹部实质脏器弥散成像的研究, 对直肠癌DWI的研究尚处于探索阶段[15].

1.2 DWI检测直肠癌的淋巴结转移 淋巴结受累是影响直肠癌重要的预后因素, 他决定了复发的风险. CRC有一个特点, 在正常大小的淋巴结内出现微小转移的频率很高, 因而单纯根据大小来判断直肠系膜淋巴结是否受侵犯是不可靠的, 而DWI在评估区分转移性淋巴结肿大, 单纯淋巴结肿大及正常大小淋巴结方面, 有明显优势[16,17], 并且DWI利用转移性淋巴结的细胞密集性与原发肿瘤相似, 并且扩散受到限制, 因而可探测直肠转移性淋巴结肿大, DWI上呈高信号结节. 文献报道淋巴结受累的腔内超声(endoluminal sonography, EUS)、CT和MRI的敏感性分别为67%、55%和66%; 特异度EUS为78%, CT为74%, MRI为76%[18]. 与上述结果相比, DWI结合常规MRI检测淋巴结转移中的灵敏度与准确率均优于在目前的研究.

现今用于评估淋巴结转移的影像学标准很不一致. 通过DWI和ADC值确定淋巴结良恶性之间的区别仍然充满挑战, 需与淋巴结大小形态、边界、信号特征、结合增强剂USPIO等综合判断. Lambregts等[19]发现了ADC值在良性和恶性淋巴结存在差异, 但存在相当大的重叠, 使其难以识别恶性肿瘤的临床可靠的阈值. 他们分析最佳阈值是1.25×10^{-3} mm^2/s的, 具有较高阳性预测值(positive predictive value, NPV)91%和较低阴性预测值(negative predictive value, PPV)35%. 这与Kim等[20]的结果相似, 在125个宫颈癌患者淋巴结的ADC为NPV(99%)但只有38%的PPV. 我们发现, 虽然他并没有改善整体性能, 但ADC结合常规T2W-MRI能提高PPV从60%-61%至83%-95%, 从而降低了过度分期的错误. de Bondt等[16]报道, 直肠癌转移淋巴结的平均ADC值为0.78×10^{-3} mm^2/s, 良性病变为1.24×10^{-3} mm^2/s, 淋巴瘤节点为0.64×10^{-3} mm^2/s, 显示恶性淋巴结ADC显著低于良性淋巴结. 而有研究报道[21]应用靶向分子探针, 可以根据淋巴结的信号强度改变而不是相对较弱的形态学标准去评价淋巴结病变的良恶性, 还可以发现直径<10 mm内的转移灶. 如今在临床统一标准阈值是目前面临的困难所在, 而今后的研究可以结合直肠癌分子成像上带来新的突破同时利用DWI评估淋巴结肿大的优势聚焦在制定影像直肠癌良恶性淋巴结的标准阈值方面.

1.3 DWI在直肠癌术前术后放化疗的评价 很多研究表明DWI的ADC值可以显示肿瘤内的坏死的程度, 因此在预测肿瘤放化疗及治疗效果的反应方面有显著的优势. Theilmann等[22]找到了

■研发前沿
目前磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)分子与功能成像在直肠癌诊断中越来越多, 而制备出合适的特异性靶向分子探针一直是当前及今后的研究热点.

■相关报道
应用靶向分子探针，可以根据淋巴结的信号强度改变而不是相对较弱的形态学标准去评价淋巴结病变的良恶性，还可以发现直径<10 mm内的转移灶.

一个强有力的负相关关系, 平均治疗前肿瘤的水ADC和化疗后肿瘤的大小变化的百分比(r = -0.67, P = 0.01), 放疗(r = -0.83, P = 0.001). 表明在化疗后反应的持久性低ADC可以代表治疗肿瘤的自生能力的部分损失. 他们也发现, 肿瘤对放化疗有反应者比非反应者在早期具有较低的ADC. Lemaire等[23]调查显示早期ADC可以预测肿瘤对氟尿嘧啶的敏感性. 在Lemaire的研究中, 肿瘤高ADC值与一个高的坏死部分有相关关系, 因此肿瘤平均ADC值可作为肿瘤坏死的替代标志[24]. 另有研究指出, 治疗前具有低ADC值的富细胞瘤比治疗前具有高ADC值的肿瘤对放化疗的反应好. 可能的解释是治疗前高ADC值的肿瘤比低ADC值得肿瘤更容易坏死. 值得注意的是随后升高的ADC可能是放化疗后由于辐射而引起的炎症.

2 灌注成像

新生血管形成是直肠癌生长和转移的一个必要的过程[25]. 肿瘤血管生成活性的水平可以预测患者的生存期. 一些研究表明, 灌注加权成像的电位可间接地确定微循环因素, 从而预测辅助或新辅助疗法[26].

磁共振灌注加权成像[27]是指将组织毛细血管水平的血流灌注情况通过MRI方式显示出来, 影像上表现为T_1信号增强或T_2信号减弱. 根据监测层面信号变化的一系列动态图像可得到该层面时间-信号强度曲线(time-signal intensity curve, TIC), 同时利用不同的数学模型亦可计算出各种灌注参数, 这些均可用于评价组织、器官的血流灌注情况[28,29]. 进展期肿瘤N分期越高表现出信号增强速度越慢, 因为对比剂首过期间主要存在于血管内, 血管外极少, 血管内外浓度梯度最大, 信号的变化受弥散因素的影响很小, 故能反映组织血液灌注的情况[30]. 也有学者[31]通过研究灌注指数(perfusion index, PI)预测放化疗有无效果, 发现治疗前两组PI值有显著的差异(P<0.001), 肿瘤对放化疗无反应表现出其一个高PI值>12.6 mL/(min•100 g), 而对放化疗有反应的肿瘤通常表现出显着较低的分值. 定义的一小部分的15%作为阈值区分反应者和无反应者. 这意味着, 在任何肿瘤若PI值的分值高于12.6 mL/min•100 g则对放化疗的反应率<15%. 有研究表明肿瘤血管增加与治疗反应正相关[32,33], 可能是由于增加肿瘤对氧的依赖, 提高药物运输能力. 然而此相关研究结果存在不一致, 某些研究显示较高的基准的灌注是良好的预测[34], 而其他人表示, 较高的基准灌注是不良反应的标志[35]. 总的来说, MR关注在直肠癌研究中较少, 结果亦不一致, 且随着三维成像技术的发展, 直肠癌灌注成像的挑战与机遇并存.

3 全身成像

癌症属于全身系统性疾病, 常发生于大范围的扩散转移. 全身MRI能检测和确定转移性病变范围, 被认为是第一线的诊断方法. 连续进床式(continuously moving table, CMT)MR为肿瘤学提供了一个新的发展前景. 滑动多层技术(sliding multi-slice, SMS)技术是轴位CMT MR成像中一种中间插页多层采集技术. 他能够在不损失图像质量的同时最小化视野(field-of-view, FOV), SMS技术可以允许任意数目的轴位层面的无缝采集, 利用这种技术的梯度回波序列对腹部图像采集只需要1 min, 而且应用SMS技术的扫描序列可以在腹部和盆腔获得和常规静止MRI类似的图像质量和诊断价值[36-38].

目前临床上多层螺旋CT(multislice spiral computed tomography, MSCT)仍旧是最主要的腹部肿瘤的侦测方法, 有研究者[39]调查SMS对于直肠癌病灶的敏感性为93.33%, 相反MSCT对病灶敏感性为83.33%, 敏感性没有显著性差异(P>0.05). 对于肝转移灶的侦测SMS的敏感性为98.72%, 相应的MSCT为100%. 对于转移淋巴结的侦测SMS的敏感性为78.3%, MSCT为75%. 即MSCT和SMS在侦测这两种类型病灶上没有明显的区别. 对骨病灶的侦测, SMS敏感性为92.86%, MSCT为7.15%. 另一份研究同样对于全部转移灶的侦测诊断SMS FLASH 2D和MSCT表现出很好的一致性Kappan值(K值)为0.67; 对于肝转移灶的侦测一致性非常好, K值为0.975; 对于转移淋巴结的侦测有中等的一致性, K值为0.5; 对于骨病灶的侦测两种方法没有一致性K值为-0.71[40]. 因此, SMS FLASH-2D序列显示了和MSCT类似的直肠癌肝转移灶和增大淋巴结的侦测能力, 且对于骨病灶的侦测能力远优于MSCT.

总之, SMS为肿瘤的分期提供重要的信息, 能极大地改进直肠癌患者的诊断和治疗的潜力.

4 分子成像

MR分子成像是利用MRI技术并借助对比剂生化特征, 直接或间接反映活体条件下生物细胞内的正常或病理状态下的分子过程. 其主要优势

在于超高的软组织和空间分辨力, 多参数成像和无限的穿透深度, 可同时获得三维解剖结构及生理病理代谢血流灌注等信息, 因此在分子成像中显示出独特的价值, 但是MRI的灵敏度较低, 需要通过信号扩增系统来提高其灵敏度. 因此制备直肠癌分子特异性探针是MR分子成像的先决条件和核心内容.

4.1 直肠癌相关标志物的研究 直肠癌尚无特异性的标志物, CEA是目前临床最常用于CRC的标志物, 此外较常用的还有CA72-4、CA19-9、CA242等. 还有新近发现的几种标志物, 如GP87是用人大肠腺瘤细胞免疫Balb/c小鼠, 制备的单克隆抗体, GP87抗原在成年人的大肠、小肠、胃、胰腺、肝组织均不表达, 在大肠腺瘤及CRC中表达率均达到90%[41]. β连环素(β-catenin)是由CTNNB1基因编码的一种多功能蛋白, CRC癌患者经常出现*β-catenin*基因的突变[42], 这种突变可导致β-catenin蛋白的浓度升高, 并异位聚集于细胞浆和细胞核上. Elzagheid等[43]证实正常组织中β连环素大部分分布于细胞膜上, 只有很少部分分布于细胞质中; 但在CRC组织中, β连环素在细胞膜、细胞质和细胞核中都有分布. 上述研究结果提示, 检测β-catenin在细胞中的定位及浓度变化, 可能会为CRC患者的诊断及预后提供新的参考. 环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, Cox-2)是一种诱导酶, 在组织损伤、炎症等情况下表达增强. 近年的研究表明, 在从结肠腺瘤到CRC的发展过程中, Cox-2的表达呈进行性增加. Hamaya等[44]利用逆转录-聚合酶链反应方法检测粪便中Cox-2 mRNA的表达来区分结肠癌, 敏感度及特异度分别达90%和100%. 这个结果说明, Cox-2对CRC的诊断有较高的特异性及敏感性, 有助于CRC的早期诊断. 在CRC中约有50%以上患者肿瘤的(vascular endothelial growth factor, VEGF)表达阳性而在正常结直肠黏膜上皮和良性肿瘤中到几乎无表达. VEGF对于血管生成前的肿瘤营养是极其重要的, 他促进不同来源内皮细胞分裂增殖和血管构建的作用, 促使内皮细胞、单核细胞的迁移, 诱发新血管生成, 这对肿瘤的生长、浸润和转移有重要影响. 国内外研究证实大肠癌VEGF的表达比正常黏膜上皮细胞明显增高[45]. 最近研究显示VEGF表达与大肠癌的浸润深度、淋巴结转移、远处转移和Dukes分期呈正相关[46]. 从Dukes A期至C期, VEGF ⅡH性表达率增加; 低分化癌中VEGF的表达明显高于中、高度分化癌; VEGF的表达与大肠癌生存率呈明显负相关(P<0.01).

表皮生长因子受体(epithelial growth factor receptor, EGFR)是一种跨膜生长因子受体, 跨膜糖蛋白, 由原癌基因C-erb B1编码. 在各种实体肿瘤中EGFR表达率最高的是头颈部肿瘤, 达95%-100%, CRC则为第2位, 表达率高达72%-89%[47]. EGFR表达阳性的癌肿具有恶性度高、侵袭力强的特点, 而且EGFR表达水平的高低与预后相关. 因而同样成为当前肿瘤分子靶向诊断与治疗的一个重要靶点. HER-2和EGFR有近50%的同源性, 在结构和功能上均相似, 接受表皮生长因子样物质的信息, 刺激细胞增殖, 具有酪氨酸激酶的活性[48]. 研究显示, HER-2在直肠癌肿瘤组织中的阳性表达率为53.8%, 且与大肠癌的生长、侵袭和转移相关[49]. 说明HER-2在大肠癌的生长、侵袭和转移中起着非常重要的作用. 因此, 从理论上讲, EGFR与HER-2可作为直肠癌受体靶向成像的重要表面标志物.

4.2 磁性分子探针 常见的MRI对比剂主要分为两类, 特异性分子探针多基于这两类对比剂. 一类是顺磁性物质Gd的有机金属配合物, 如Gd-DTPA, 产生T_1加权像的对比增强. 钆类特异性分子探针制备的方法是基于钆与靶向性配体连接在一起, 靶向性配体与靶结构上的受体结合后, 靶结构即可显像. 如Boutry等[50]把Gd-DTPA与可溶性黏附分子E-seleclin的配体[sialyl-lewis(x)]连接, 为我们提示了炎症病灶的MR定性诊断的一种新思路. Anderson等[51]将含有Gd的微粒与新生血管特征性标志物avb3整合素的抗体DMl01连接, 构成[Gd(Ⅲ)]-[DMl01]分子探针, 为肿瘤新生血管显像研究提供新思路. 大量研究报道单克隆抗体成功标记钆离子的对比剂可靶向性增强肿瘤, 但是由于Gd-DTPA离子较大, 抗体结合数量往往有限且信号强度不高. 最近美国FDA已发布关于含Gd类造影剂的公共卫生警告[52], 警告Gd类对比剂可能导致肾源性纤维化(nephrogenic systemicfibrosis).

另一类对比剂为超顺磁性磁性氧化铁(superparamagnetic iron oxide, SPIO), 其使组织T_2信号降低, 主要应用于肝癌的诊断. 近年来, 随着纳米技术水平的提高, SPIO类分子探针方面的研究有新的进展, 其在细胞示踪、基因标记、肿瘤靶向成像、炎性成像中均显示出独特价值[53]. Qiao等[54]采用表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)和成纤维细胞激活蛋白(fibroblast activation protein, FAP), 前

■创新盘点

本文全面阐述了MRI分子与功能成像在直肠癌诊断中的应用现状与趋势, 为直肠癌的靶向分子成像提供新思路.

■应用要点
早期诊断直肠癌能显著降低其死亡率, 磁共振功能成像的不断完善与分子成像的不断探索有助于提高直肠癌早期诊断率.

者在CRC中高表达, 后者专一性高表达于肿瘤间质, 可更好地用于描绘肿瘤边界, 适用于微小肿瘤的早期诊断, 以化学键合的方式通过修饰在磁性纳米颗粒表面聚乙烯二醇(polyethylene glycol, PEG)末端的羧基与上述靶点相关的抗体进行耦联, 获得肿瘤分子影像探针. 与Gd类小分子对比剂相比, 氧化铁纳米颗粒为核心的纳米对比剂的检测灵敏度要显著高于Gd类对比剂[55], 同时具有生物可降解性并且被细胞代谢后可进入正常的血浆铁池. 因此, 磁性氧化铁纳米颗粒以其优异的体内安全性、肿瘤组织特异性及高磁敏感性, 已经成为构建新型MRI对比剂的首选材料.

4.3 多模态分子影像 目前磁共振多模态分子影像技术在肿瘤早期诊断中的应用主要以荧光分子探针为基础, 合成多功能靶向探针, 结合光学成像与MRI以实现肿瘤及癌前病变的早期诊断[56]. 张兵波等[57]以钆离子、近红外低毒量子点、二氧化硅和聚丙烯酸等为原料, 构建出MRI弛豫率/荧光效率高和生物相容性好的Gd^{3+}/量子点多模态纳米探针, T_1加权MRI 成像证实了Gd^{3+}/量子点多模态纳米探针具有很好的阳性对比功效. 宋歌[58]构建了QDs@Gd^{3+}-RGD[一类含有精氨酸. 甘氨酸-天冬氨酸(Arg. Gly. Asp)的短肽]双模态显像纳米探针成功实现体外大肠癌Lovo细胞的MRI显像. 张琨[59]采用化学交联法构建VEGF抗体MR靶向超顺磁性分子探针, 研究表明携带纳米铁颗粒的抗VEGF分子探针已将肿瘤血管生成的评价发展到受体水平, 为肿瘤血管生成的诊断与抗血管生成的治疗提供了新的思路. 应用多模态分子影像方法将高分辨MRI图像与高灵敏的光学成像相结合, 以实现对于肿瘤特别是微小肿瘤的早期诊断. 任何一种单一的成像方式都不足以充分地获取肿瘤的信息, 联合使用多种分子成像技术可实现彼此优势互补, 能够为明确诊断提供更加精确而全面的信息. 其他多模式成像也正在研发之中, 如MRI/CT、MRI/NIRF/PET、MRI/PET/生物发光共振能量转移等[60]. 此外, 一些多功能分子探针, 如诊断和治疗联合分子探针也越来越受到广泛关注. 总之, 多模式影像探针的应用仍处于初级阶段, 许多工作包括技术上的准确性、重现性和标准化方法的建立等有待于提高和深入.

5 结论

影像学检查在直肠癌患者的诊治上起到了中枢性的作用. 在所有的技术中MRI在肿瘤分期诊断上的能力、决定选择合适外科方式及是否需要新辅助疗法的优势, 而成为目前临床选择的最佳模式, 而MRI功能和分子影像能够检测生理和细胞过程, 打开了个体化治疗的大门并为新的肿瘤学治疗提供了更多充足的评估. 因此加大对直肠癌磁共振功能和分子成像的研究, 将为临床更好的诊断和治疗提供新思路与新方法.

6 参考文献

1 Jemal A, Murray T, Ward E, Samuels A, Tiwari RC, Ghafoor A, Feuer EJ, Thun MJ. Cancer statistics, 2005. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 10-30 [PMID: 15661684 DOI: 10.3322/canjclin.55.4.259]
2 Parkin DM. Global cancer statistics in the year 2000. *Lancet Oncol* 2001; 2: 533-543 [PMID: 11905707]
3 Sung JJ, Lau JY, Goh KL, Leung WK. Increasing incidence of colorectal cancer in Asia: implications for screening. *Lancet Oncol* 2005; 6: 871-876 [PMID: 16257795]
4 Lu JB, Sun XB, Dai DX, Zhu SK, Chang QL, Liu SZ, Duan WJ. Epidemiology of gastroenterologic cancer in Henan Province, China. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2400-2403 [PMID: 14606064]
5 Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108 [PMID: 15761078 DOI: 10.3322/canjclin.55.2.74]
6 范小晶, 潘卫东, 秦明伟. 弥散加权成像在直肠癌诊断中的应用价值. 中国医学科学院学报 2012; 34: 534-538
7 Glunde K, Pathak AP, Bhujwalla ZM. Molecular-functional imaging of cancer: to image and imagine. *Trends Mol Med* 2007; 13: 287-297 [PMID: 17544849]
8 Hosonuma T, Tozaki M, Ichiba N, Sakuma T, Hayashi D, Yanaga K, Fukuda K. Clinical usefulness of diffusion-weighted imaging using low and high b-values to detect rectal cancer. *Magn Reson Med Sci* 2006; 5: 173-177[PMID: 17332707 DOI: 10.1039/B902394A]
9 张瑞, 郑玄中. 应用ROC曲线评价DWI诊断直肠癌的价值. 实用医学影像学杂志 2011; 12: 170-173
10 Zech CJ, Herrmann KA, Dietrich O, Horger W, Reiser MF, Schoenberg SO. Black-blood diffusion-weighted EPI acquisition of the liver with parallel imaging: comparison with a standard T2-weighted sequence for detection of focal liver lesions. *Invest Radiol* 2008; 43: 261-266 [PMID: 18340250]
11 Haider MA, van der Kwast TH, Tanguay J, Evans AJ, Hashmi AT, Lockwood G, Trachtenberg J. Combined T2-weighted and diffusion-weighted MRI for localization of prostate cancer. *AJR Am J Roentgenol* 2007; 189: 323-328 [PMID: 17646457 DOI: 10.2214/AJR.07.2211]
12 Tanimoto A, Nakashima J, Kohno H, Shinmoto H, Kuribayashi S. Prostate cancer screening: the clinical value of diffusion-weighted imaging and dynamic MR imaging in combination with T2-weighted imaging. *J Magn Reson Imaging* 2007; 25: 146-152 [PMID: 17139633 DOI: 10.1002/jmri.20793]
13 孙应实, 张晓鹏, 唐磊. 直肠癌扩散加权成像b值选取及其对直肠癌显示能力的评价. 中国医学影像技术 2005; 21: 1839-1841
14 Morawski AM, Lanza GA, Wickline SA. Targeted

contrast agents for magnetic resonance imaging and ultrasound. *Curr Opin Biotechnol* 2005; 16: 89-92 [PMID: 15722020]
15 Kwee TC, Takahara T, Ochiai R, Nievelstein RA, Luijten PR. Diffusion-weighted whole-body imaging with background body signal suppression (DWIBS): features and potential applications in oncology. *Eur Radiol* 2008; 18: 1937-1952 [PMID: 18446344 DOI: 10.1016/j.copbio.2004.11.001]
16 de Bondt RB, Hoeberigs MC, Nelemans PJ, Deserno WM, Peutz-Kootstra C, Kremer B, Beets-Tan RG. Diagnostic accuracy and additional value of diffusion-weighted imaging for discrimination of malignant cervical lymph nodes in head and neck squamous cell carcinoma. *Neuroradiology* 2009; 51: 183-192 [PMID: 19137282 DOI: 10.1007/s00234-008-0487-2]
17 Park SO, Kim JK, Kim KA, Park BW, Kim N, Cho G, Choi HJ, Cho KS. Relative apparent diffusion coefficient: determination of reference site and validation of benefit for detecting metastatic lymph nodes in uterine cervical cancer. *J Magn Reson Imaging* 2009; 29: 383-390 [PMID: 19161191 DOI: 10.1002/jmri.21635]
18 Bipat S, Glas AS, Slors FJ, Zwinderman AH, Bossuyt PM, Stoker J. Rectal cancer: local staging and assessment of lymph node involvement with endoluminal US, CT, and MR imaging--a meta-analysis. *Radiology* 2004; 232: 773-783 [PMID: 15273331 DOI: 10.1148/radiol.2323031368]
19 Lambregts DM, Maas M, Riedl RG, Bakers FC, Verwoerd JL, Kessels AG, Lammering G, Boetes C, Beets GL, Beets-Tan RG. Value of ADC measurements for nodal staging after chemoradiation in locally advanced rectal cancer-a per lesion validation study. *Eur Radiol* 2011; 21: 265-273 [PMID: 20730540]
20 Kim JK, Kim KA, Park BW, Kim N, Cho KS. Feasibility of diffusion-weighted imaging in the differentiation of metastatic from nonmetastatic lymph nodes: early experience. *J Magn Reson Imaging* 2008; 28: 714-719 [PMID: 18777531 DOI: 10.1002/jmri.21480]
21 Kwee TC, Takahara T, Luijten PR, Nievelstein RA. ADC measurements of lymph nodes: inter- and intra-observer reproducibility study and an overview of the literature. *Eur J Radiol* 2010; 75: 215-220 [PMID: 19375259 DOI: 10.1016/j.ejrad.2009.03.026]
22 Theilmann RJ, Borders R, Trouard TP, Xia G, Outwater E, Ranger-Moore J, Gillies RJ, Stopeck A. Changes in water mobility measured by diffusion MRI predict response of metastatic breast cancer to chemotherapy. *Neoplasia* 2004; 6: 831-837 [PMID: 15720810]
23 Lemaire L, Howe FA, Rodrigues LM, Griffiths JR. Assessment of induced rat mammary tumour response to chemotherapy using the apparent diffusion coefficient of tissue water as determined by diffusion-weighted 1H-NMR spectroscopy in vivo. *MAGMA* 1999; 8: 20-26 [PMID: 10383089]
24 Devries AF, Griebel J, Kremser C, Judmaier W, Gneiting T, Kreczy A, Ofner D, Pfeiffer KP, Brix G, Lukas P. Tumor microcirculation evaluated by dynamic magnetic resonance imaging predicts therapy outcome for primary rectal carcinoma. *Cancer Res* 2001; 61: 2513-2516 [PMID: 11289123]
25 Liu X, Li Y, Wei J, Zhao Y. [Role of Ang-2, Tie-2 and VEGFR-2 in angiogenesis in colorectal carcinoma and their prognostic value]. *Nanfang Yike Daxue Xuebao* 2012; 32: 1658-1662 [PMID: 23174599]
26 Sahani DV, Kalva SP, Hamberg LM, Hahn PF, Willett CG, Saini S, Mueller PR, Lee TY. Assessing tumor perfusion and treatment response in rectal cancer with multisection CT: initial observations. *Radiology* 2005; 234: 785-792 [PMID: 15734934 DOI: 10.1148/radiol.2343040286]
27 杨淑芳, 张和平. 磁共振灌注成像在胰腺癌中的应用现状研究. 中国CT和MRI杂志 2012; 10: 106-109
28 Manka C, Träber F, Gieseke J, Schild HH, Kuhl CK. Three-dimensional dynamic susceptibility-weighted perfusion MR imaging at 3.0 T: feasibility and contrast agent dose. *Radiology* 2005; 234: 869-877 [PMID: 15665227]
29 Yao WW, Zhang H, Ding B, Fu T, Jia H, Pang L, Song L, Xu W, Song Q, Chen K, Pan Z. Rectal cancer: 3D dynamic contrast-enhanced MRI; correlation with microvascular density and clinicopathological features. *Radiol Med* 2011; 116: 366-374 [PMID: 21298356 DOI: 10.1007/s11547-011-0628-2]
30 Hong HS, Kim SH, Park HJ, Park MS, Kim KW, Kim WH, Kim NK, Lee JM, Cho HJ. Correlations of dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging with morphologic, angiogenic, and molecular prognostic factors in rectal cancer. *Yonsei Med J* 2013; 54: 123-130 [PMID: 23225808 DOI: 10.3349/ymj.2013.54.1.123]
31 Devries AF, Griebel J, Kremser C, Judmaier W, Gneiting T, Kreczy A, Ofner D, Pfeiffer KP, Brix G, Lukas P. Tumor microcirculation evaluated by dynamic magnetic resonance imaging predicts therapy outcome for primary rectal carcinoma. *Cancer Res* 2001; 61: 2513-2516 [PMID: 11289123]
32 Barrett T, Kobayashi H, Brechbiel M, Choyke PL. Macromolecular MRI contrast agents for imaging tumor angiogenesis. *Eur J Radiol* 2006; 60: 353-366 [PMID: 16930905 DOI: 10.1016/j.ejrad.2006.06.025]
33 Zahra MA, Hollingsworth KG, Sala E, Lomas DJ, Tan LT. Dynamic contrast-enhanced MRI as a predictor of tumour response to radiotherapy. *Lancet Oncol* 2007; 8: 63-74 [PMID: 17196512 DOI: 10.1016/S1470-2045(06)71012-9]
34 Bellomi M, Petralia G, Sonzogni A, Zampino MG, Rocca A. CT perfusion for the monitoring of neoadjuvant chemotherapy and radiation therapy in rectal carcinoma: initial experience. *Radiology* 2007; 244: 486-493 [PMID: 17641369]
35 George ML, Dzik-Jurasz AS, Padhani AR, Brown G, Tait DM, Eccles SA, Swift RI. Non-invasive methods of assessing angiogenesis and their value in predicting response to treatment in colorectal cancer. *Br J Surg* 2001; 88: 1628-1636 [PMID: 11736977 DOI: 10.1046/j.0007-1323.2001.01947.x]
36 Schaefer O, Langer M. Detection of recurrent rectal cancer with CT, MRI and PET/CT. *Eur Radiol* 2007; 17: 2044-2054 [PMID: 17404742 DOI: 10.1007/s00330-007-0613-2]
37 Fautz HP, Honal M, Saueressig U, Schäfer O, Kannengiesser SA. Artifact reduction in moving-table acquisitions using parallel imaging and multiple averages. *Magn Reson Med* 2007; 57: 226-232 [PMID: 17191244 DOI: 10.1002/mrm.21117]
38 Fautz HP, Kannengiesser SA. Sliding multislice (SMS): a new technique for minimum FOV usage in axial continuously moving-table acquisitions. *Magn*

■同行评价
本文从MRI分子与功能成像研究热点方面对直肠癌诊断的现状与趋势进行较全面的阐述, 内容客观全面, 观点新颖, 具有一定的科学意义.

Reson Med 2006; 55: 363-370 [PMID: 16408283 DOI: 10.1002/mrm.20762]
39 熊斌. 滑动多层MRI在直肠癌M分期中的价值. 华中科技大学学报 2009; 38: 224-2278
40 Ludwig U, Sommer G, Zaitsev M, Ghanem N, Hennig J, Fautz HP. 2D axial moving table acquisitions with dynamic slice adaptation. *Magn Reson Med* 2006; 55: 423-430 [PMID: 16416433]
41 王为, 周国华. 结直肠癌肿瘤标志物的研究进展. 华南国防医学杂志 2007; 21: 49-52
42 周峰, 何显力, 邢金良. 结直肠癌相关肿瘤标志物的最新研究进展. 医学与哲学(临床决策论坛版) 2010; 31: 1-4
43 Elzagheid A, Buhmeida A, Korkeila E, Collan Y, Syrjanen K, Pyrhonen S. Nuclear beta-catenin expression as a prognostic factor in advanced colorectal carcinoma. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 3866-3871 [PMID: 18609711]
44 Hamaya Y, Yoshida K, Takai T, Ikuma M, Hishida A, Kanaoka S. Factors that contribute to faecal cyclooxygenase-2 mRNA expression in subjects with colorectal cancer. *Br J Cancer* 2010; 102: 916-921 [PMID: 20145612 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605564]
45 许正昌. VEGF、LN和IFN在大肠癌组织中的表达及临床意义. 中华统代外科学杂志 2005; 2: 10-13
46 Kato Y, Asano K, Mogi T, Kutara K, Teshima K, Edamura K, Tsumagari S, Hasegawa A, Tanaka S. Clinical significance of circulating vascular endothelial growth factor in dogs with mammary gland tumors. *J Vet Med Sci* 2007; 69: 77-80 [PMID: 17283406]
47 郁宝铭. 结直肠癌分子靶向治疗药物研究现状. 世界华人消化杂志 2008; 16: 3705-3712
48 Kavanagh DO, Chambers G, O'Grady L, Barry KM, Waldron RP, Bennani F, Eustace PW, Tobbia I. Is overexpression of HER-2 a predictor of prognosis in colorectal cancer? *BMC Cancer* 2009; 9: 1 [PMID: 19118499]
49 魏学明, 顾国利. 大肠癌EGFR、HER-2、VEGF表达特点及其对分子靶向治疗的指导意义. 世界华人消化杂志 2009; 17: 1836-1841
50 Boutry S, Burtea C, Laurent S, Toubeau G, Vander Elst L, Muller RN. Magnetic resonance imaging of inflammation with a specific selectin-targeted contrast agent. *Magn Reson Med* 2005; 53: 800-807 [PMID: 15799062]
51 Anderson SA, Rader RK, Westlin WF, Null C, Jackson D, Lanza GM, Wickline SA, Kotyk JJ. Magnetic resonance contrast enhancement of neovasculature with alpha(v)beta(3)-targeted nanoparticles. *Magn Reson Med* 2000; 44: 433-439 [PMID: 10975896]
52 梁治平, 曾旭文. Gd(Ⅲ)类分子探针在MRI分子影像学中的研究进展. 临床放射学杂志 2006; 25: 782-784
53 Hwang do W, Ko HY, Kim SK, Kim D, Lee DS, Kim S. Development of a quadruple imaging modality by using nanoparticles. *Chemistry* 2009; 15: 9387-9393 [PMID: 19658128]
54 Qiao R, Yang C, Gao M. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles: from preparations to in vivo MRI applications. *J Mater Chem* 2009; 19: 6274-6293 [DOI: 10.1039/B902394A]
55 De Leon-Rodriguez LM, Lubag AJ, Malloy CR, Martinez GV, Gillies RJ, Sherry AD. Responsive MRI agents for sensing metabolism in vivo. *Acc Chem Res* 2009; 42: 948-957 [PMID: 19265438]
56 周晖, 吴俊娇, 范洁琳. 多模态分子影像技术应用于肿瘤的研究进展. 中国医学影像学杂志 2011; 19: 794-797
57 张兵波, 宫晓群, 李卓权. 用于疾病诊断的Gd Ⅲ/量子点多模态成像探针的构建.高等学校化学学报 2010; 31: 982-985
58 宋歌. 靶向RGD-Gd荧光纳米探针在体外大肠癌细胞的MRI显像研究. 苏州大学, 2011
59 张琨. 抗血管内皮生长因子MR靶向超顺磁性分子探针的构建及体外大肠癌细胞显像的实验研究. 中华放射学杂志 2010; 44: 84-91
60 乔瑞瑞, 曾剑峰. 磁性氧化铁纳米颗粒–通向肿瘤磁共振分子影像的重要基石. 物理化学学报 2012; 28: 993-1011

编辑 田滢 电编 闫晋利

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》栏目设置

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

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2013年6月28日; 21(18): 1733-1739
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

正加速度暴露下急性胃黏膜损伤胃组织中MDA、SOD水平的变化

邵颖锬, 李 静, 陈 英, 杨春敏, 范 勤, 唐合兰, 贾 敏, 王建昌, 辛益妹

邵颖锬, 河北北方学院 河北省张家口市 075000
李静, 陈英, 杨春敏, 范勤, 唐合兰, 贾敏, 王建昌, 中国人民解放军空军总医院干部病房 北京市 100142
辛益妹, 中国人民解放军空军航空医学研究所 北京市 100142
中国人民解放军全军十二五科技攻关基金资助项目, No. AKJ11J004
作者贡献分布: 邵颖锬与杨春敏对此文贡献均等; 此课题由杨春敏与邵颖锬设计; 研究过程由邵颖锬操作完成; 研究试剂及工具由陈英、范勤、唐合兰及辛益妹提供, 数据分析由邵颖锬、李静、贾敏及王建昌完成; 本论文写作由邵颖锬完成.
通讯作者: 杨春敏, 教授, 主任医师, 100142, 北京市海淀区阜成路30号, 中国人民解放军空军总医院干部病房消化科.
chunmyang@sina.com
收稿日期: 2013-04-29 修回日期: 2013-05-16
接受日期: 2013-05-19 在线出版日期: 2013-06-28

Levels of MDA and SOD in acute gastric mucosal injury in rats exposed to positive acceleration

Ying-Tan Shao, Jing Li, Ying Chen, Chun-Min Yang, Qin Fan, He-Lan Tang, Min Jia, Jian-Chang Wang, Yi-Mei Xin

Ying-Tan Shao, Hebei North University, Zhangjiakou 075000, China
Jing Li, Ying Chen, Chun-Min Yang, Qin Fan, He-Lan Tang, Min Jia, Jian-Chang Wang, Department of Gastroenterology, General Hospital of Air Force of Chinese PLA, Beijing 100142, China
Yi-Mei Xin, Air Force Institute of Aviation Medicine, Beijing 100142, China
Supported by: the Military Scientific and Technological Project during the "Twelfth Five-year" Period, No. AKJ11J004
Correspondence to: Chun-Min Yang, Professor, Chief Physician, General Hospital of Air Force of Chinese PLA, 30 Fucheng Road, Haidian District, Beijing 100142, China. chunmyang@sina.com
Received: 2013-04-29 Revised: 2013-05-16
Accepted: 2013-05-19 Published online: 2013-06-28

Abstract

AIM: To determine the levels of malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) in acute gastric mucosal injury in rats exposed to positive acceleration (+Gz), observe the impact of +Gz exposure on gastric mucosal injury, and clarify the role of oxygen free radicals in this process.

METHODS: Thirty male SD rats were randomly divided into three groups: A (ethanol), B (ethanol with +5Gz exposure), and C (ethanol with +10Gz exposure). All rats were intragastrically given ethanol (0.4 mL/100 mg) after 24 h of fasting and water deprivation for 12 h. One hour after ethanol administration, group A did not undergo +Gz, while groups B and C were continuously exposed to +5Gz and +10Gz for 3 minutes, respectively. Immediately after +Gz exposure, gastric tissue samples were taken to observe gastric mucosal injury by light microscopy. The indexes of gastric mucosal injury were calculated, and the contents of MDA and SOD in the gastric mucosa were determined by ELISA.

RESULTS: Gastric mucosal injury was observed in all the groups, and gastric mucosal injury was most severe in group C, followed by groups B and A. Group A had mildest gastric mucosal injury. Group B showed visible gastric mucosal congestion, edema and scattered bleeding spots, and light microscopy revealed acute inflammatory cell infiltration. The indexes of gastric mucosal injury were significantly higher in group B than in group A (naked eye: 23.654 ± 9.678 *vs* 11.410 ± 3.742; light microscopy: 5.000 ± 1.054 *vs* 3.800 ± 1.399; both $P < 0.05$). Group C had heaviest gastric mucosal injury. Diffuse gastric mucosal congestion, edema, erosion and many bleeding spots were visible, and light microscopy revealed disorderly arranged gland structure, interstitial congestion, erosion, and acute inflammatory cell infiltration. The indexes of gastric mucosal injury were significantly higher in group C than in groups A and B (naked eye: 49.080 ± 10.254, light microscopy: 9.400 ± 2.011; all $P < 0.05$). Compared with group A, the content of MDA in the gastric mucosa did not rise significantly in group B (0.255 ± 0.074 *vs* 0.235 ± 0.044, $P > 0.05$); however, MDA content in group C (0.376 ± 0.084) was significantly higher than those in groups A and B (both $P < 0.05$). The content of SOD in the gastric mucosa was significantly lower in group C than in groups A and B (8.852 ± 1.001 *vs* 10.000 ± 1.067, 10.694 ± 0.965, $P < 0.05$),

■背景资料
现代高性能战斗机产生的正加速度(+Gz)对机体心血管、意识、骨骼、肾脏等系统均有影响, 研究+Gz暴露时胃黏膜的变化对临床防治飞行员胃肠疾病有重要意义.

■同行评议者
姜相君, 主任医师, 青岛市市立医院消化科

■研发前沿
以往研究显示+Gz暴露可引起正常胃黏膜损伤，由于各种因素引起胃黏膜损伤后再次暴露于+Gz条件时，胃黏膜的变化及氧自由基在其中起到的作用方面鲜有报道.

although no significant difference was observed between the latter two groups ($P > 0.05$).

CONCLUSION: +Gz exposure aggravates acute gastric mucosal injury in rats possibly by altering the contents of MDA and SOD in gastric tissue.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Positive acceleration; Oxygen free radicals; Malondialdehyde; Superoxide dismutase; Stomach; Mucosal

Shao YT, Li J, Chen Y, Yang CM, Fan Q, Tang HL, Jia M, Wang JC, Xin YM. Levels of MDA and SOD in acute gastric mucosal injury in rats exposed to positive acceleration. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(18): 1733-1739 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1733.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i18.1733

摘要

目的: 研究正加速度(+Gz)暴露下急性胃黏膜损伤胃组织中氧自由基代谢指标丙二醛(malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)的水平变化，阐明+Gz暴露对胃黏膜损伤的影响，并研究氧自由基在其中的作用，为飞行员胃肠病的防治提供理论依据.

方法: 30只♂SD大鼠随机分成以下3组: A组为无水乙醇对照组，B组为无水乙醇+5Gz值暴露组，C组为无水乙醇+10Gz值暴露组. 每组大鼠各10只，适应性喂养10 d后禁食24 h，禁水12 h，用无水乙醇(0.4 mL/100 mg)灌胃1 h后，A组不受加速度作用，B、C组分别于+5Gz、+10Gz值下连续暴露3 min. 每组下离心机后立即予戊巴比妥麻醉取大鼠胃组织，观察各组胃黏膜损伤情况及光镜观察组织形态学的改变，按GUTH法及Whittle法计算胃黏膜损伤指数，并用ELISA法检测胃黏膜中MDA、SOD的含量.

结果: (1)各组大鼠胃黏膜在肉眼及光镜下观察均有损伤，损伤程度: C组>B组>A组，A组(肉眼11.410±3.742，光镜3.800±1.399)，B组肉眼可见胃黏膜充血、水肿，散在出血斑点，光镜下可见急性炎细胞浸润(肉眼23.654±9.678，光镜5.000±1.054)，与A组相比差异有统计学意义($P<0.05$)；C组胃黏膜损伤最重，肉眼可见胃黏膜弥漫性充血、水肿，伴糜烂、大面积出血斑，光镜下可见大部分腺体结构紊乱，组织间质片状充血、糜烂，急性炎细胞浸润(肉眼49.080±10.254，光镜9.400±2.011)，与A、B两组相比差异均有统计学意义($P<0.05$)；(2)与A组相比，B组胃黏膜中MDA含量升高不明显(0.255±0.074 *vs* 0.235±0.044)，差异无统计学意义($P>0.05$)，C组胃黏膜中MDA含量明显升高(0.376±0.084 *vs* 0.235±0.044)，与A、B两组相比差异均有统计学意义($P<0.05$)；与A组相比，B组胃黏膜中SOD含量下降不明显(10.000±1.067 *vs* 10.694±0.965)，差异无统计学意义($P>0.05$)，C组胃黏膜中SOD含量明显下降(8.852±1.001 *vs* 10.694±0.965)，与A、B两组相比差异均有统计学意义($P<0.05$).

结论: +Gz值暴露可加重急性胃黏膜损伤，胃组织中MDA、SOD的含量变化说明氧自由基在胃黏膜损伤中起到重要作用.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 正加速度; 氧自由基; 丙二醛; 超氧化物歧化酶; 胃; 黏膜

核心提示: 本实验主要研究+Gz暴露对已有胃黏膜损伤后胃黏膜的变化，通过大鼠胃内灌注无水乙醇致急性胃黏膜损伤模型结合不同+Gz值暴露，观察+Gz对大鼠胃黏膜损伤的影响，并测定胃黏膜组织中丙二醛(malondialdehyde)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase)的含量，结果显示高+Gz值暴露可加重胃黏膜的急性损伤，胃黏膜氧化应激水平增加，抗氧化能力降低，这可能是胃黏膜损伤加重的重要因素之一，为临床尝试通过抗氧化治疗进行飞行胃肠疾病的防治提供了新的实验依据.

邵颖锬，李静，陈英，杨春敏，范勤，唐合兰，贾敏，王建昌，辛益妹. 正加速度暴露下急性胃黏膜损伤胃组织中MDA、SOD水平的变化. 世界华人消化杂志 2013; 21(18): 1733-1739 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1733.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i18.1733

0 引言

现代高性能战斗机在机动飞行中所产生的正加速度(+Gz)具有高G值、快增长率、持续时间长并可反复出现等特点，其加速度过载已远远超过飞行员的生理耐受限度[1]. 目前许多研究表明+Gz对机体心血管、意识、骨骼、肾脏等[2-5]系统均有影响，而飞行及训练中所出现的应激性胃炎、急性胃黏膜病变等消化疾病的高发病率，引起航空航天医学工作者的广泛重视，已有研究表明[6]+Gz可引起胃黏膜急性损伤，吸烟、饮酒[7]、噪声、生活作息不规律等也会影响到消化系统疾病的发生，我们先前的研究显示失重、+Gz暴露对大鼠正常胃黏膜均有损伤[8,9]，

在已有胃黏膜损伤后暴露于+Gz条件时, 其胃黏膜的变化还少有报道, 本实验通过大鼠胃内灌注无水乙醇致急性胃黏膜损伤模型结合不同+Gz值暴露, 观察+Gz对大鼠胃黏膜损伤的影响, 并测定胃黏膜组织中丙二醛(malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)的含量, 旨在进一步阐明氧自由基在其中的影响及可能机制, 为临床防治飞行员胃肠疾病提供理论依据.

1 材料和方法

1.1 材料 健康♂SD大鼠30只, SPF级, 体质量200 g±10 g, 由中国军事医学科学院实验动物中心提供, 许可证号SCXK-(军)-2007-004; 模拟加速度动物离心机(由空军航空医学研究所提供); 动物手术器械; 游标卡尺; MDA、SOD酶联免疫试剂盒均购自北京华英生物技术研究所; 无水乙醇, 北京化工公司, 批号20120314; 戊巴比妥钠, sigma公司, 生产批号P4281; 0.9%氯化钠注射液(华润双鹤药业股份有限公司, 生产批号C201212171); 40%甲醛溶液(北京益利精细化学品有限公司, 生产批号20110823).

1.2 方法

1.2.1 分组: SD大鼠30只, 随机分成3组. A组: 无水乙醇对照组, B组: 无水乙醇+5Gz值暴露组, C组: 无水乙醇+10Gz值暴露组, 每组10只. 大鼠适应性饲养10 d后进行实验.

1.2.2 大鼠模拟加速度模型制备: +Gz暴露方式采用离心机模拟+Gz暴露. 利用特制固定盒承载大鼠, 固定于动物离心机转臂上, 大鼠头朝向离心机轴心, 离心机半径为1 m, 每只大鼠专用1个固定盒, 保证加速度作用的方向. Gz值增长率为1.0 Gz/s, 由计算机进行加速度程序控制.

1.2.3 实验具体步骤: 实验前大鼠禁食24 h, 禁水12 h, 经灌胃器胃内灌注无水乙醇(0.4 mL/100 mg). 各组大鼠无水乙醇灌胃1 h后, A组上机捆绑3 min, 不受加速度作用; B 组在+5Gz值下连续暴露3 min; C组在+10Gz值下连续暴露3 min. 3组下机后均立即处死, 留取胃黏膜及胃组织标本, 待肉眼及光镜下观察, 并检测胃黏膜组织中MDA、SOD的含量.

1.2.4 标本处理: (1)胃黏膜损伤指数: 每组大鼠下离心机后3%戊巴比妥钠0.6 mL/200 g腹腔麻醉, 解剖大鼠取出胃. 沿胃大弯侧剪开, 用生理盐水冲洗, 滤纸吸干, 平铺于载玻片上. 胃黏膜损伤程度以黏膜损伤指数表示, 参考Guth法计分: 正常胃黏膜为0分, 损伤呈长条索状者, 测其长度, 以1 mm计1分, 若宽度>1 mm, 则计分加倍; 出血点状者(长宽均<1 mm)计0.5; 出血呈斑块状者(长宽均>2 mm), 测定其面积, 以面积计分; (2)病理学观测: 胃黏膜损伤指数测量后, 留取损伤最重部位(0.5 cm×0.5 cm), 将组织固定、脱水后, 做石蜡切片, 苏木精(伊红)染色, 用光学显微镜观察黏膜组织的病理形态变化. 按Whittle评分评价胃黏膜损伤程度: 上皮细胞毁坏为1分, 胃腺中断、上层黏膜充血水肿为2分, 中下层黏膜出血性损害为3分, 深层坏死或溃疡形成为4分, 组织学损伤指数为每张切片的评分累积, 最大组织学损伤指数为10分; (3)胃黏膜MDA、SOD含量检测 测量胃黏膜损伤指数及留取病理标本后, 用刀片轻轻刮取胃黏膜, 置EP管中, 于-80 ℃冰箱保存待用, 采用ELISA检测MDA、SOD含量, 用时称重, 以4%生理盐水制成10%的组织匀浆, 4 ℃下4000 r/min离心10 min, 取上清液检测, 具体操作方法按照MDA、SOD酶联免疫试剂盒说明书进行, 为保证实验结果的可靠性, 每一标本均做复孔测定, 同时设立阳性和阴性对照.

统计学处理 应用SPSS17.0统计学软件, 对数据进行方差分析, 以mean±SD表示, 采用*t*检验, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 不同+Gz值暴露大鼠胃黏膜大体结构变化 无水乙醇对照组大鼠胃黏膜表面轻度充血、水肿(11.410±3.742), +Gz暴露后胃黏膜损伤加重, 无水乙醇+5Gz暴露组胃黏膜表面充血、水肿, 有散在点状和条索状糜烂及出血(23.654±9.678), 与对照组相比差异有统计学意义; 无水乙醇+10Gz暴露组胃黏膜损伤最重, 胃黏膜表面弥漫性充血、水肿, 可见多发点状及灶状糜烂、大面积出血斑, 部分黏膜剥脱(49.080±10.254), 且与对照组及+5Gz暴露组相比差异均有统计学意义($P<0.05$)(表1).

2.2 不同+Gz值暴露大鼠胃黏膜光镜变化 无水乙醇对照组上皮较完整, 部分胃黏膜可见间质出血, 伴有少量炎性细胞浸润(3.800±1.399); +Gz暴露后胃黏膜损伤加重, 无水乙醇+5Gz暴露组胃黏膜上皮相对不完整, 部分腺体结构紊乱, 黏膜下层有少量中性粒细胞浸润(5.000±1.054), 与对照组相比差异有统计学意义; 无水乙醇+10Gz暴露组损伤最重, 大部分腺体结构紊

■相关报道
+Gz暴露已引起应激性胃炎、急性胃黏膜病变等消化系疾病的高发病率, 以往基础研究显示+Gz暴露可引起正常胃黏膜损伤, 已有胃黏膜损伤后暴露于+Gz条件时, 其胃黏膜的变化还少有报道.

■创新盛点
本实验主要研究+Gz暴露对已有胃黏膜损伤后胃黏膜的变化, 并研究氧自由基在其中的影响及可能机制, 为临床防治飞行员胃肠疾病提供理论依据.

表 1 不同+Gz值暴露后大鼠肉眼及光镜下胃黏膜的损伤指数 (n = 10, mean ± SD)

分组	肉眼	光镜下
无水乙醇对照组	11.410 ± 3.742	3.800 ± 1.399
	t = 3.732	t = 2.167
无水乙醇+5Gz组	23.654 ± 9.678[b]	5.000 ± 1.054[b]
	t = 5.703	t = 6.128
无水乙醇+10Gz值组	49.080 ± 10.254[bd]	9.400 ± 2.011[bd]
	t = 10.914	t = 7.230

[b]P<0.01 *vs* 无水乙醇对照组; +10Gz组与比较, [d]P<0.01 *vs* 无水乙醇+5Gz组.

表 2 不同+Gz值暴露后大鼠胃黏膜MDA与SOD的含量 (n = 10, mean ± SD)

分组	丙二醛	超氧化物歧化酶
无水乙醇对照组	0.235 ± 0.044	10.694 ± 0.965
	t = 4.930	t = 4.198
无水乙醇+5Gz组	0.255 ± 0.074	10.000 ± 1.067
	t = 0.747	t = 1.534
无水乙醇+10Gz组	0.376 ± 0.084[ac]	8.852 ± 1.001[ac]
	t = 3.529	t = 2.482

[a]P<0.05 *vs* 无水乙醇对照组; [c]P<0.05 *vs* 无水乙醇+5Gz组.

乱, 组织间质片状充血、糜烂, 黏膜下层及肌层可见中性粒细胞浸润, 甚至累及浆膜层(9.400±2.011), 与对照组及+5Gz暴露组相比, 差异均有统计学意义(P<0.05)(表1).

2.3 不同+Gz值暴露组大鼠胃黏膜MDA、SOD的含量 与无水乙醇对照组相比, +Gz暴露组胃黏膜中MDA含量均有升高, 无水乙醇+5Gz暴露组升高不明显(0.255±0.074), 与对照组相比差异无统计学意义(P>0.05); 无水乙醇+10Gz暴露组胃黏膜MDA含量明显升高(0.255±0.074), 与对照组、+5Gz暴露组相比, 差异均有统计学意义(P<0.05), 说明+Gz暴露会加重胃黏膜损伤, 高+Gz暴露对胃黏膜的损伤更大.

与无水乙醇对照组相比, +Gz暴露组胃黏膜中SOD含量均有下降, 无水乙醇+5Gz暴露组下降不明显(10.000±1.067), 与对照组相比差异无统计学意义(P>0.05); 无水乙醇+10Gz暴露组胃黏膜SOD含量明显下降(8.852±1.001), 与对照组、+5Gz暴露组相比, 差异均有统计学意义(P<0.05), 说明+Gz暴露会引起胃黏膜保护性因素下降, 高+Gz暴露对胃黏膜的影响更大(表2).

3 讨论

+Gz是指飞行时产生的由头至脚方向的加速度, 当加速度值>7时即为高正加速度. 大量研究表明高正加速度暴露可以导致急、慢性胃黏膜病变[6]. 在+Gz暴露下, 由于离心的惯性作用力、交感神经兴奋性增强等因素, 可引起胃黏膜下血管痉挛收缩, 黏膜血供减少, 造成局部组织缺血缺氧, 抵抗力降低. 钟学军等[10]的研究显示模拟飞行训练在高+Gz值暴露下时, 损伤组胃窦黏膜水肿、充血, 并有点片状糜烂. 本实验的研究结果显示, +Gz暴露后可加重胃黏膜损伤, 且+Gz值越高, 损伤越重, 这也与我们以前的实验结果趋势一致[9]. 有研究表明氧自由基在胃黏膜损伤中起到重要作用[11,12]. Yashimura等[13]、Alarcón de la Lastra等[14]的研究证实氧自由基与胃黏膜损伤关系密切. 张雯等[15]的研究表明在失重状态下, 氧自由基可影响胃黏膜溃疡愈合. 本实验着重研究+Gz暴露对胃黏膜损伤的影响, 结果显示+Gz暴露可加重胃黏膜损伤, 且+Gz值越高损伤越重, 并通过检测胃黏膜组织中MDA、SOD的水平变化, 发现氧自由基是其损伤的重要机制之一.

在生理条件下, 胃肠道本身可产生并释放少量氧自由基, 其上皮细胞中NADPH氧化酶和“双氧化酶”可产生超氧根阴离子(O_2-)和过氧化氢[16-18]. 正常人体内存在清除氧自由基的防御系统, 使其生成量不至于达到损伤组织的程度.

体内重要的抗氧化损伤细胞防御系统包括还原型谷胱甘肽(reduced glutathione, GSH)、SOD和过氧化氢酶[19,20]. SOD及MDA是目前公认的较好反映体内自由基变化的指标. 正常情况下, 胃黏膜氧化/抗氧化系统保持平衡[21], 当胃黏膜在化学物质作用或缺血等情况下, 便产生大量的自由基[22], 包括分子与未成对电子, 亦称为活性氧(reactive oxygen species, ROS), 如O_2-、羟自由基(OH)和一氧化氮(nitrous oxide, NO)等[23,24], 其主要来源是线粒体电子传递链的外溢[25,26], 可参与细胞增殖和凋亡的调控, 是细胞和线粒体损伤的主要因素[27].

NSAIDs、乙醇、强碱及物理等因素[28]可引起胃黏膜病变, 破坏胃黏膜屏障. 已有研究显示[29]乙醇引起的胃黏膜病变的机制多样, 其中重要的一点是与氧自由基有关[30]. 有研究显示[31,32]在乙醇诱导的胃黏膜损伤中, SOD的活性下降. 本实验研究结果显示, 各组大鼠胃黏膜的SOD含量均下降, 且与无水乙醇对照组相比, +Gz暴露后SOD的含量明显下降, 且与+Gz值暴露呈负相关, +Gz越高, SOD含量下降越多, 提示+Gz暴露可引起胃黏膜抗氧自由基保护性因素下降. 此外, Olaleye等[33]研究表明, 乙醇引起的胃黏膜脂质过氧化作用增强. MDA作为氧自由基攻击生物膜中的多不饱和脂肪酸而形成的脂质过氧化产物, 可用于衡量细胞膜的损伤程度[34]. 本实验中, 与无水乙醇对照组相比, +Gz暴露后胃黏膜中MDA含量明显增多, 且与+Gz值呈正相关, 说明+Gz值可加重胃黏膜的损伤, 其机制可能是通过脂质过氧化作用引起. 另外我们发现, 无水乙醇+5Gz暴露组胃黏膜MDA、SOD的含量变化与无水乙醇对照组相比, 差异无明显统计学意义, 说明低+Gz值暴露对大鼠胃黏膜损伤影响不大, 但高+Gz值暴露可明显加重胃黏膜的损伤, 提示临床对高+Gz值暴露致胃黏膜损伤的防护更有意义.

另外, 在+Gz作用下, 随着流体静压梯度的增加, 器官的动脉血压降低, 血流量下降到临界值以下时, 组织可发生急性缺血缺氧[35]. 中性粒细胞作为机体最活跃的炎症细胞, 特别是在感染、缺血等病理环境中可大量产生. 许多研究发现中性粒细胞浸润在胃黏膜损伤中发挥了重要作用[36-38]. 在炎症的早期阶段中性粒细胞向炎症部位迁移发挥了重要的防御作用[39], 但当中性粒细胞与靶细胞的比率达到一定的非生理性水平(>20∶1)时, 可引起胃黏膜上皮细胞损伤[40]. 其机制可能是通过激活细胞膜中无活性的还原型辅酶Ⅱ(reduced nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate Ⅱ, NADPHⅡ), 诱导中性粒细胞呼吸爆发, 产生释放大量的ROS, 从而引起正常组织的损伤[41,42]. 我们在光镜下观察到, +Gz暴露后的胃黏膜病理切片中可见到大量炎性细胞浸润, 提示+Gz暴露引起的胃黏膜损伤, 可能与趋化炎性细胞、促进脂质过氧化作用有关. 另外, 由于胃黏膜血管自身可有适应性舒张保护功能, 当胃黏膜恢复血流时, 胃黏膜组织发生缺血再灌注, 成为ROS介导的细胞膜的损伤和破坏的重要因素[43]. 在胃黏膜局部缺血期间, 血流量减少, 细胞可有坏死、功能障碍和毒性代谢产物的产生[44], 此外, 细胞能量不足时, 细胞内Ca^{2+}增多, 可使黄嘌呤脱氢酶快速不可逆地转变成黄嘌呤氧化酶, 而胃肠道本身黄嘌呤脱氢酶的含量远高于其他任何组织; 再灌注时立即向组织提供了分子氧, 产生大量的ROS, 并可通过Haber-Weiss反应可生成细胞毒性更大的羟自由基, 攻击膜脂质, 引起核酸、酶、受体等结构改变, 使细胞活性丧失[45]. 同时也有研究证实中性粒细胞的激活在缺血/再灌注性血管内皮损伤中发挥了重要作用[46]. 此外胃酸返渗增多, 也加重了胃黏膜的损伤. 所以+Gz暴露也有可能是通过使胃黏膜血管缺血再灌注, 介导氧自由基大量产生, 从而加重了胃黏膜的损伤.

总之, 在高+Gz值下暴露, 可加重胃黏膜的急性损伤, 胃黏膜氧化应激水平增加, 抗氧化能力降低, 这可能是胃黏膜损伤加重的重要因素之一, 为临床尝试通过抗氧化治疗进行飞行胃肠疾病的防治提供了新的实验依据.

■名词解释
正加速度: 飞行时产生的由头至脚方向的加速度, 当加速度值>7时即为高正加速度.

4 参考文献

1 郑军, 肖晓光, 姚克纯, 刘成刚, 徐蜀宣, 王学娟, 王洪波, 纪桂英. 不同水平Gz暴露后飞行员心脏功能的变化. 中华航空航天医学杂志 2004; 15: 65-69
2 周瑛, 王冰, 王永春, 吴燕红, 张舒, 耿捷, 孙喜庆. 重复Gz暴露后大鼠心室肌的细胞凋亡现象. 中国应用生理学杂志 2010; 26: 275-277
3 Tripp LD, Warm JS, Matthews G, Chiu P, Werchan P, Deaton JE. +Gz acceleration loss of consciousness: time course of performance deficits with repeated experience. *Hum Factors* 2006; 48: 109-120 [PMID: 16696261 DOI: 10.1518/001872006776412144]
4 Wagstaff AS, Jahr KI, Rodskier S. +Gz-induced spinal symptoms in fighter pilots: operational and individual associated factors. *Aviat Space Environ Med* 2012; 83: 1092-1096 [PMID: 23156098 DOI: 10.3357/ASEM.3146.2012]
5 李鹏, 李卫东, 赵青平, 张书海. Gz训练对高性能战斗机飞行员尿NAG, mALB及β2-MG的影响. 航天医学与医学工程杂志 2011; 24: 221-223

■同行评价
本文立题新颖, 内容详细, 结论可靠, 有一定指导意义.

6 赵洪礼, 吴战军, 孙跃, 谢艳娜. 高Gz值暴露对胃黏膜损伤的防治性研究. 实用医药杂志 2010; 27: 545-550
7 万憬, 徐珀, 韩桐师, 郑军, 炜桑, 裴楠, 赵佳, 徐海涛. 飞行员饮酒情况调查与分析. 中国疗养医学杂志 2010; l9: 760-762
8 张雯, 李静, 韩全利, 陈英, 唐合兰, 杜斌, 杨春敏. 模拟失重对大鼠实验性胃溃疡愈合的影响. 世界华人消化杂志 2011; 19: 2863-2868
9 范勤, 陈英, 杜斌, 韩全利, 杨春敏. Gz暴露对大鼠胃黏膜损伤及胃液表皮生长因子含量的影响. 胃肠病学和肝病学杂志 2013; 22: 228-231
10 钟学军, 吴战军, 孙延平, 许刚, 徐奎浩, 田广庆. Gz值暴露后大鼠胃十二指肠黏膜及生长抑素含量的变化. 航天医学与医学工程杂志 2005; 18: 148-150
11 施华秀, 任建林. 氧自由基与胃黏膜损伤. 世界华人消化杂志 2005; 13: 2582-2585
12 李燕舞, 宋宁, 王汝俊. 黄芪总苷对应激大鼠胃黏膜氧自由基及褪黑素受体的影响. 世界华人消化杂志 2008; 16: 3321-3323
13 Yoshimura T, Sugata H. Alcohol scavenges nitric oxide in gastric lumen. *Nitric Oxide* 2002; 6: 347-352 [PMID: 12009853 DOI: 10.1006/niox.2001.0411]
14 Alarcón de la Lastra C, Nieto A, Martín MJ, Cabré F, Herrerías JM, Motilva V. Gastric toxicity of racemic ketoprofen and its enantiomers in rat: oxygen radical generation and COX-expression. *Inflamm Res* 2002; 51: 51-57 [PMID: 11930903 DOI: 10.1007/BF02683999]
15 张雯, 唐合兰, 李静, 陈英, 杜斌, 韩全利, 杨春敏. 模拟失重对大鼠实验性胃溃疡氧化应激状态的影响. 胃肠病学和肝病学杂志 2012; 21: 268-270
16 Kuwano Y, Kawahara T, Yamamoto H, Teshima-Kondo S, Tominaga K, Masuda K, Kishi K, Morita K, Rokutan K. Interferon-gamma activates transcription of NADPH oxidase 1 gene and upregulates production of superoxide anion by human large intestinal epithelial cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2006; 290: C433-C443 [PMID: 16162660 DOI: 10.1152/ajpcell.00135.2005]
17 Ha EM, Oh CT, Bae YS, Lee WJ. A direct role for dual oxidase in Drosophila gut immunity. *Science* 2005; 310: 847-850 [PMID: 16272120 DOI: 10.1126/science.1117311]
18 El Hassani RA, Benfares N, Caillou B, Talbot M, Sabourin JC, Belotte V, Morand S, Gnidehou S, Agnandji D, Ohayon R, Kaniewski J, Noël-Hudson MS, Bidart JM, Schlumberger M, Virion A, Dupuy C. Dual oxidase2 is expressed all along the digestive tract. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005; 288: G933-G942 [PMID: 15591162 DOI: 10.1152/ajpgi.00198.2004]
19 Oh TY, Lee JS, Ahn BO, Cho H, Kim WB, Kim YB, Surh YJ, Cho SW, Hahm KB. Oxidative damages are critical in pathogenesis of reflux esophagitis: implication of antioxidants in its treatment. *Free Radic Biol Med* 2001; 30: 905-915 [PMID: 11295533 DOI: 10.1016/S0891-5849(01)00472-5]
20 Li Y, Wo JM, Ellis S, Ray MB, Jones W, Martin RC. A novel external esophageal perfusion model for reflux esophageal injury. *Dig Dis Sci* 2006; 51: 527-532 [PMID: 16614962 DOI: 10.1007/s10620-006-3165-4]
21 Galle J. [Atherosclerosis and arteriitis: implications for therapy of cardiovascular disease]. *Herz* 2004; 29: 4-11 [PMID: 14968336 DOI: 10.1007/s00059-004-2520-5]
22 Kwiecień S, Brzozowski T, Konturek PCh, Konturek SJ. The role of reactive oxygen species in action of nitric oxide-donors on stress-induced gastric mucosal lesions. *J Physiol Pharmacol* 2002; 53: 761-773 [PMID: 12510862]
23 Kim H. Oxidative stress in Helicobacter pylori-induced gastric cell injury. *Inflammopharmacology* 2005; 13: 63-74 [PMID: 16259728 DOI: 10.1163/156856005774423962]
24 Holian O, Wahid S, Atten MJ, Attar BM. Inhibition of gastric cancer cell proliferation by resveratrol: role of nitric oxide. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002; 282: G809-G816 [PMID: 11960777]
25 Murphy MP. How mitochondria produce reactive oxygen species. *Biochem J* 2009; 417: 1-13 [PMID: 19061483 DOI: 10.1042/BJ20081386]
26 Turrens JF. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J Physiol* 2003; 552: 335-344 [PMID: 14561818 DOI: 10.1113/jphysiol.2003.049478]
27 Kakkar P, Singh BK. Mitochondria: a hub of redox activities and cellular distress control. *Mol Cell Biochem* 2007; 305: 235-253 [PMID: 17562131 DOI: 10.1007/s11010-007-9520-8]
28 Das SK, Roy C. The protective role of Aegle marmelos on aspirin-induced gastro-duodenal ulceration in albino rat model: a possible involvement of antioxidants. *Saudi J Gastroenterol* 2012; 18: 188-194 [PMID: 22626798 DOI: 10.4103/1319-3767.96452]
29 邓源, 于红, 李秀敏, 丰玉蓉. 乙醇对胃黏膜的损伤作用. 华北国防医药 2006; 18: 327-329
30 Ismail IF, Golbabapour S, Hassandarvish P, Hajrezaie M, Abdul Majid N, Kadir FA, Al-Bayaty F, Awang K, Hazni H, Abdulla MA. Gastroprotective Activity of Polygonum chinense Aqueous Leaf Extract on Ethanol-Induced Hemorrhagic Mucosal Lesions in Rats. *Evid Based Complement Alternat Med* 2012; 2012: 404012 [PMID: 23365597]
31 Olaleye SB, Farombi EO. Attenuation of indomethacin- and HCl/ethanol-induced oxidative gastric mucosa damage in rats by kolaviron, a natural biflavonoid of Garcinia kola seed. *Phytother Res* 2006; 20: 14-20 [PMID: 16397915 DOI: 10.1002/ptr.1793]
32 Alvarez-Suarez JM, Dekanski D, Ristić S, Radonjić NV, Petronijević ND, Giampieri F, Astolfi P, González-Paramás AM, Santos-Buelga C, Tulipani S, Quiles JL, Mezzetti B, Battino M. Strawberry polyphenols attenuate ethanol-induced gastric lesions in rats by activation of antioxidant enzymes and attenuation of MDA increase. *PLoS One* 2011; 6: e25878 [PMID: 22016781 DOI: 10.1371/journal.pone.0025878]
33 Olaleye SB, Adaramoye OA, Erigbali PP, Adeniyi OS. Lead exposure increases oxidative stress in the gastric mucosa of HCl/ethanol-exposed rats. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 5121-5126 [PMID: 17876879]
34 蒋时红, 刘旺根, 王雪萍, 王玎玎, 吴景兰. 黄芪建中汤对脾虚型慢性萎缩性胃炎大鼠血象、血液和胃黏膜生化指标的影响. 中国中医基础医学杂志 2006: 12: 279-281
35 刘建彬, 王洪波, 刘丽, 梁雪清, 于立身. 离心机训练对大鼠脑及其它组织IL-6和TNFα基因表达水平的影响. 中国生物化学与分子生物学报 2002; 18: 649-653
36 Ichikawa H, Naito Y, Takagi T, Tomatsuri N, Yoshida N, Yoshikawa T. A specific peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (PPAR-gamma) ligand, pioglitazone, ameliorates gastric mucosal damage induced by ischemia and reperfusion in rats. *Redox Rep* 2002; 7: 343-346 [PMID: 12688526 DOI: 10.1179/135100002125000956]
37 Jiménez MD, Martín MJ, Alarcón de la Lastra C, Bruseghini L, Esteras A, Herrerías JM, Motilva V. Role of L-arginine in ibuprofen-induced oxidative

stress and neutrophil infiltration in gastric mucosa. *Free Radic Res* 2004; 38: 903-911 [PMID: 15621707 DOI: 10.1080/10715760410001705168]
38 Sener G, Paskaloglu K, Kapucu C, Cetinel S, Contuk G, Ayanoğlu-Dülger G. Octreotide ameliorates alendronate-induced gastric injury. *Peptides* 2004; 25: 115-121 [PMID: 15003363 DOI: 10.1016/j.peptides.2003.11.017]
39 Cassatella MA. Neutrophil-derived proteins: selling cytokines by the pound. *Adv Immunol* 1999; 73: 369-509 [PMID: 10399011 DOI: 10.1016/S0065-2776(08)60791-9]
40 苏红, 曹之宪. 乙醇对大鼠胃黏膜的影响. 世界华人消化杂志 2000; 8: 355-356
41 邢宇坤, 张伟. 中性粒细胞呼吸爆发的产生机制及其炎症效应. 基础医学与临床 2004; 24: 1-5
42 吴新海, 屠伟峰. 中性粒细胞凋亡和MODS. 解放军医学杂志 2005; 30: 173-174
43 Zamora Rodríguez ZB, González Alvarez R, Guanche D, Merino N, Hernández Rosales F, Menéndez Cepero S, Alonso González Y, Schulz S. Antioxidant mechanism is involved in the gastroprotective effects of ozonized sunflower oil in ethanol-induced ulcers in rats. *Mediators Inflamm* 2007; 2007: 65873 [PMID: 17497036]
44 de Groot H. [Injury to visceral organs by ischemia and reperfusion. Processes in pathogenetic networks]. *Zentralbl Chir* 2005; 130: 202-212 [PMID: 15965871 DOI: 10.1055/s-2005-836578]
45 Yasukawa K, Kasazaki K, Hyodo F, Utsumi H. Non-invasive analysis of reactive oxygen species generated in rats with water immersion restraint-induced gastric lesions using in vivo electron spin resonance spectroscopy. *Free Radic Res* 2004; 38: 147-155 [PMID: 15104208 DOI: 10.1080/1071576036001641196]
46 Okajima K, Harada N, Uchiba M, Mori M. Neutrophil elastase contributes to the development of ischemia-reperfusion-induced liver injury by decreasing endothelial production of prostacyclin in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 287: G1116-G1123 [PMID: 15246960 DOI: 10.1152/ajpgi.00061.2004]

编辑 田滢 电编 闫晋利

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

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

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

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

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

世界华人消化杂志 2013年6月28日; 21(18): 1740-1744
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

SLP-2 siRNA对裸鼠胃癌移植瘤细胞增殖及凋亡的影响

张 剑, 吴 敏, 王丽娟, 张红巧, 师广勇, 巴 楠, 张自森, 闫 琳, 郑晓珂

■背景资料
*SLP-2*基因是2000年发现并命名的一个新基因. 研究表明, *SLP-2*基因在食管癌、肺癌、子宫内膜癌、结直肠癌等恶性肿瘤中高表达. 推测其可能是一个新的癌基因. 在前期工作中, 我们采用RT-PCR法及免疫组织化学法发现*SLP-2*基因在胃癌组织中的表达明显高于癌旁正常胃组织.

张剑, 吴敏, 王丽娟, 张红巧, 师广勇, 巴楠, 张自森, 闫琳, 郑晓珂, 郑州大学第五附属医院肿瘤科 河南省郑州市 450052
张剑, 主要从事消化系肿瘤的相关研究.
作者贡献分布: 本课题由张剑、吴敏及王丽娟设计; 张剑完成课题主要工作; 张红巧、师广勇、巴楠、张自森、闫琳及郑晓珂参与课题研究.
通讯作者: 张剑, 主治医师, 450052, 河南省郑州市二七区康复前街3号, 郑州大学第五附属医院肿瘤科. bluemoon630@163.com
收稿日期: 2013-02-21 修回日期: 2013-04-18
接受日期: 2013-05-19 在线出版日期: 2013-06-28

Effect of siRNA-mediated SLP-2 silencing on tumor cell proliferation and apoptosis in nude mice bearing gastric tumor xenografts

Jian Zhang, Min Wu, Li-Juan Wang, Hong-Qiao Zhang, Guang-Yong Shi, Nan Ba, Zi-Sen Zhang, Lin Yan, Xiao-Ke Zheng

Jian Zhang, Min Wu, Li-Juan Wang, Hong-Qiao Zhang, Guang-Yong Shi, Nan Ba, Zi-Sen Zhang, Lin Yan, Xiao-Ke Zheng, Department of Oncology, the Fifth Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China
Correspondence to: Jian Zhang, Attending Physician, Department of Oncology, the Fifth Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 3 Kangfu Qianjie, Erqi District, Zhengzhou 450052, Henan Province, China. bluemoon630@163.com
Received: 2013-02-21 Revised: 2013-04-18
Accepted: 2013-05-19 Published online: 2013-06-28

Abstract

AIM: To investigate the effect of siRNA-mediated SLP-2 silencing on tumor cell proliferation and apoptosis in nude mice bearing gastric tumor xenografts.

METHODS: Chemically modified SLP-2 siRNA was designed and constructed. A tumor-bearing model was developed by inoculation of gastric cancer SGC-7901 cells into BALB/c nude mice subcutaneously. All mice were randomized into three groups: a SLP-2 siRNA-transfected group, a negative control group and a blank control group. Chemically modified SLP-2 siRNA and a negative control siRNA were injected into tumor xenografts of the SLP-2 siRNA transfected group and negative control group, respectively, while the blank control group only received an injection of equal volume of saline. Tumor volume was recorded and the apoptosis index was observed. The expression of SLP-2 mRNA and protein in tumor tissue was measured by RT-PCR and immunohistochemistry.

RESULTS: Compared to the two control groups, tumor volume was significantly decreased in the SLP-2 siRNA transfected group (P = 0.009, 0.003), and the reduced rate of tumor growth was 26.74% and 30.15%. The number of apoptotic cells and apoptosis index showed no significant differences between the SLP-2 siRNA transfected group and the two control groups (both P > 0.05).

CONCLUSION: SiRNA-mediated SLP-2 silencing inhibits tumor cell growth but has no significant effect on tumor cell apoptosis in tumor xenografts.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Gastric carcinoma; SLP-2; siRNA; Tumor xenografts

Zhang J, Wu M, Wang LJ, Zhang HQ, Shi GY, Ba N, Zhang ZS, Yan L, Zheng XK. Effect of siRNA-mediated SLP-2 silencing on tumor cell proliferation and apoptosis in nude mice bearing gastric tumor xenografts. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(18): 1740-1744 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1740.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i18.1740

摘要

目的: 探讨SLP-2 siRNA对裸鼠胃癌移植瘤细胞增殖及凋亡的影响.

方法: 设计合成化学修饰的SLP-2 siRNA, 将胃癌细胞SGC-7901接种于裸鼠皮下建立裸鼠胃癌移植瘤模型, 随机分为转染SLP-2 siRNA组、阴性对照组和空白对照组, 于肿瘤局部分别多点多次注射化学修饰SLP-2 siRNA、阴性对照siRNA及生理盐水. 检测3组移植瘤细胞增殖及凋亡状况, RT-PCR及免疫组织化学技术检测移植瘤细胞内SLP-2 mRNA及蛋白的表达.

■同行评议者
肖秀英, 副主任医师, 上海市徐汇区中心医院肿瘤科; 于颖彦, 教授, 瑞金医院消化外科研究所与器官移植中心

结果: 与两对照组相比, 注射化学修饰的SLP-2 siRNA后, 裸鼠胃癌移植瘤细胞生长速度减慢、移植瘤体积减小($P = 0.009$, $P = 0.003$). 抑制瘤率分别为26.74%和30.15%, 细胞凋亡无明显变化($P>0.05$), 肿瘤细胞内SLP-2 mRNA及蛋白的表达量降低.

结论: SLP-2 siRNA可抑制人胃癌裸鼠移植瘤的生长, 但对细胞凋亡无影响, 提示*SLP-2*基因参与促进胃癌细胞增殖.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 胃癌; SLP-2; siRNA; 裸鼠移植瘤模型

核心提示: 本实验构建了胃癌细胞SGC-7901的裸鼠移植瘤模型, 观察SLP-2 siRNA对体内胃癌细胞的作用, 结果发现, SLP-2 siRNA能抑制裸鼠体内胃癌的生长, 但对细胞凋亡无明显影响.

张剑, 吴敏, 王丽娟, 张红巧, 师广勇, 巴楠, 张自森, 闫琳, 郑晓珂. SLP-2 siRNA对裸鼠胃癌移植瘤细胞增殖及凋亡的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(18): 1740-1744 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1740.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i18.1740

0 引言

胃癌是世界上最为常见的恶性肿瘤之一, 居男性恶性肿瘤发病率的第3位, 女性恶性肿瘤发病率的第4位. 包括中国在内的东亚地区是世界上胃癌发病率和死亡率最高的地区[1]. 腺癌是胃癌最主要的病理类型. 恶性肿瘤的发生是涉及到多基因、多分子水平变化、多阶段的一个复杂过程, 而癌基因的激活和抑癌基因的失活是该过程的重要事件之一. *SLP-2*基因是2000年由美国耶鲁大学病理科首次发现并命名的, 属于*Stomatin*基因超家族的一个新成员[2], 其具体特性和功能尚未查明. 中国医学科学院张立勇等[3]首次发现*SLP-2*基因在食管鳞状细胞癌中过表达, 其在食管鳞癌中的表达水平是正常食管黏膜中的6倍以上, 并发现其与肿瘤的发生发展关系密切. 在前期工作中, 我们采用RT-PCR法及免疫组织化学法发现*SLP-2*基因在胃癌组织中的表达明显高于癌旁正常胃组织[4], 在本研究中, 我们构建胃癌细胞SGC-7901裸鼠移植瘤模型, 通过多点多次注射将化学修饰的SLP-2 siRNA转染入移植瘤细胞, 观察SLP-2 siRNA对裸鼠移植瘤细胞增殖、凋亡的影响, 并通过RT-PCR和免疫组织化学法检测转染SLP-2 siRNA后移植瘤中*SLP-2*基因的表达, 以期为肿瘤的基因治疗提供参考依据.

1 材料和方法

1.1 材料 人中分化胃腺癌细胞系SGC-7901购自上海中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库. 用含10%胎牛血清、100 U/mL青霉素、0.1 mg/mL链霉素的RPMI 1640培养液于37 ℃、5%CO_2培养箱中培养, 4-6 d传代1次, 选用对数生长期细胞进行实验. Balb/c♀裸小鼠, 4-6 wk, 体质量14-16 g, 购自中国科学院上海实验动物中心, 在郑州大学一附院实验动物中心SPF条件下饲养. 化学修饰的SLP-2 siRNA序列(Sense 5'-UGC UGC CUG AUU UAU CUG UUC AGC C-3', Antisense 5'-GGC UGA ACA GAU AAA UCA GGC AGC A-3')及1对与*SLP-2*基因序列无同源性的阴性对照siRNA序列由上海吉玛公司设计合成.

1.2 方法

1.2.1 人胃癌裸鼠模型的建立和处理: 消化细胞, 制成细胞悬液, 调整细胞浓度为5×10^7个/mL, 将200 μL细胞悬液(约含1×10^7个细胞)注射于15只裸鼠近左侧腋窝处皮下. 将裸鼠分为3组: 转染SLP-2 siRNA组、阴性对照组和空白对照组, 每组5只. 转染SLP-2 siRNA组每只裸鼠移植瘤内多点注射20 μL(10 μg/μL)SLP-2 siRNA-lipofectamine复合物, 阴性对照组给予等量阴性对照siRNA-lipofectamine复合物, 空白对照组仅给予等量生理盐水注射, 1次/3 d, 共15 d, 第16天处死裸鼠.

1.2.2 观察移植瘤体积并计算生长抑制率: 测量肿瘤长径(a)和短径(b), 并计算其体积($V = 1/6\pi ab^2$), 每3 d测量一次, 计算移植瘤生长抑制率, 同时用电子天平测量裸鼠体质量. 第16天处死裸鼠后, 一部分肿瘤组织迅速置于液氮中保存, 随后转移至-80 ℃冰箱中长期保存. 另一部分肿瘤组织用10%甲醛固定, 石蜡包埋制成切片. 移植瘤生长抑瘤率(%) = (△V对照组-△V 转染SLP-2 siRNA组/△V对照组)×100%.

1.2.3 计算移植瘤细胞凋亡指数: 每个裸鼠移植瘤切片随机选取5个高倍视野计数100个瘤细胞中的凋亡细胞数, 百分比即为凋亡指数(apoptosis index, AI).

1.2.4 IHC法检测SLP-2蛋白在裸鼠移植瘤中的表达: 所有组织均用10%甲醛溶液固定, 经脱水、包埋、3 μm厚连续切片. 鼠抗人SLP-2单克隆抗体购自美国proteintech公司, 稀释度为1∶200.

■研发前沿
目前SLP-2与恶性肿瘤的关系及其作用机制是研究热点.

■相关报道
研究显示, *SLP-2*基因在食管癌、肺癌、子宫内膜癌、乳腺癌、前列腺癌、结直肠癌、肝癌等恶性肿瘤中存在高表达, 将*SLP-2*正义核酸和反义核酸导入食管癌、肺癌和子宫内膜癌细胞系, 发现*SLP-2*正义核酸可促进癌细胞增殖、抑制细胞凋亡, 并能提高癌细胞的转移能力, 而反义核酸的作用相反.

■创新盘点

本实验首次通过建立裸鼠移植瘤模型, 研究*SLP-2*基因沉默对在体胃癌细胞生长及凋亡的影响. 结果表明, SLP-2 siRNA可抑制人胃癌裸鼠移植瘤的生长, 但对细胞凋亡无影响, 提示*SLP-2*基因参与促进胃癌细胞增殖.

表 1 3组裸鼠移植瘤体积 (mean ± SD)

分组	移植瘤体积(mm^3)	*F*值	*P*值
转染SLP-2 siRNA组	662.60 ± 115.65		
阴性对照组	904.40 ± 146.59	7.839	0.007
空白对照组	948.60 ± 102.42		

表 2 3组裸鼠移植瘤凋亡指数 (mean ± SD)

分组	凋亡指数(%)	*F*值	*P*值
转染SLP-2 siRNA组	8.18 ± 1.21		
阴性对照组	7.08 ± 2.07	0.706	0.513
空白对照组	7.28 ± 1.25		

即用型一步法(非生物素)检测试剂盒购自迈新公司. 操作步骤按试剂盒说明书进行. 用PBS代替一抗作阴性对照, 用已知阳性片作阳性对照.

免疫组织化学染色由两位高年资病理科医师在双盲条件下进行评定, 判定标准参照文献[5], 每张切片根据阳性细胞染色程度及细胞阳性百分数的多少进行分级. 计数阳性细胞百分数: 没有阳性细胞赋值为0, 1%-25%为1, 26%-50%为2, 51-75%为3, >75%为4. 染色程度根据据每张切片的大多数细胞染色特征决定: 细胞膜及细胞浆无着色赋值为0, 浅黄色为1, 黄色为2, 棕黄色为3. 最终评分由两者分数相乘得到, 总值≥8分为高表达, <8分为阴性或低表达.

1.2.5 RT-PCR法检测SLP-2 mRNA在裸鼠移植瘤中的表达: 用于扩增*SLP-2*基因的上游引物5'-CTGGAGCCTGGTTTGAACAT-3'; 下游引物为5'-AGGATCTGGGCCTGTTTCTT-3', 扩增片断长度为500 bp. 以β-actin为内对照, 上游引物为5'-ACACTGTGCCCATCTACGACC-3'; 下游引物为5'-AGGGGCCGGACTCGTCATAGA-3', 扩增片断长度为242 bp. PCR反应体系: 2×Taq PCR MasterMix 12.5 μL, β-actin上、下游引物各1 μL, SLP-2上、下游引物各1 μL, cDNA 2 μL, ddH_2O补至25 μL. PCR反应在2400型PCR仪(美国PE公司产品)上进行, 预变性: 94 ℃, 5 min, 进入循环: 94 ℃, 30 s, 55 ℃, 30 s, 72 ℃, 50 s, 共30个循环, 最后延伸72 ℃, 7 min, 获取扩增片断.

扩增产物进行1.5%琼脂糖凝胶电泳后, 电泳条带图像用Fluor-S MutiImager凝胶成像仪(美国Bio-Rad公司产品)扫描, 用Multi-Analyst软件包(美国Bio-Rad公司产品)定量分析电泳分离的各特异扩增条带的原始*A*值, 以SLP-2与β-actin的*A*值的比值表示SLP-2 mRNA的相对表达水平.

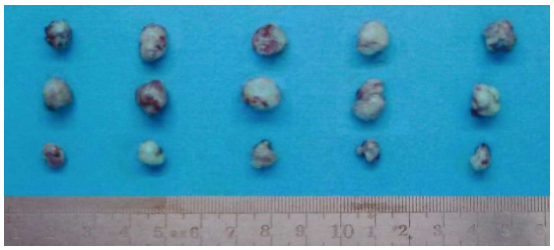


图 1 移植瘤.

统计学处理 采用SPSS16.0软件进行统计分析. 采用χ^2检验及方差分析, 组间比较用LSD-*t*检验. $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 SLP-2 siRNA对裸鼠移植瘤体积的影响 与两对照组相比, 转染SLP-2 siRNA组瘤体体积明显减小, 3组比较差异有统计学意义($P = 0.007$)(表1, 图1). 组间比较, 转染SLP-2 siRNA组与两对照组相比差异均有统计学意义($P = 0.009$, $P = 0.003$), 而两对照组之间差异无统计学意义($P = 0.580$), 移植瘤生长抑制率分别为: 26.74%和30.15%.

2.2 肿瘤细胞AI 转染SLP-2 siRNA组的移植瘤细胞AI与两对照组相比较, 差异无统计学意义($P = 0.513$)(表2, 图2).

2.3 IHC法检测SLP-2 siRNA对裸鼠移植瘤SLP-2蛋白表达的影响: 转染SLP-2 siRNA组染色积分与两对照组相比, 差异有统计学意义($P = 0.000$), 组间比较, 转染SLP-2 siRNA组与两对照组相比差异均有统计学意义($P = 0.000$, $P = 0.000$), 阴性对照组和空白对照组相比无显著差异($P = 0.781$)(表3).

2.4 RT-PCR检测SLP-2 siRNA对裸鼠移植瘤SLP-2 mRNA表达的影响 转染SLP-2 siRNA组与两对照组相比, 差异有统计学意义($P = 0.000$, 表4). 组间比较, 转染SLP-2 siRNA组与两对照组相比差异均有统计学意义($P = 0.000$, $P = 0.000$), 阴性对照组和空白对照组相比无显著差异($P = 0.337$)(表4).

3 讨论

*SLP-2*基因是2000年首次发现并命名的一个新基因, 并在当时被鉴定为细胞膜相关蛋白[2]. *SLP-2*基因其含有Stomatin家族的保守序列而被认为是stomatin家族的一个新成员. Stomatin蛋白广泛存在于不同种属的多种组织中, 是一种整合膜蛋白, Stomatin及其同源物可能作为离

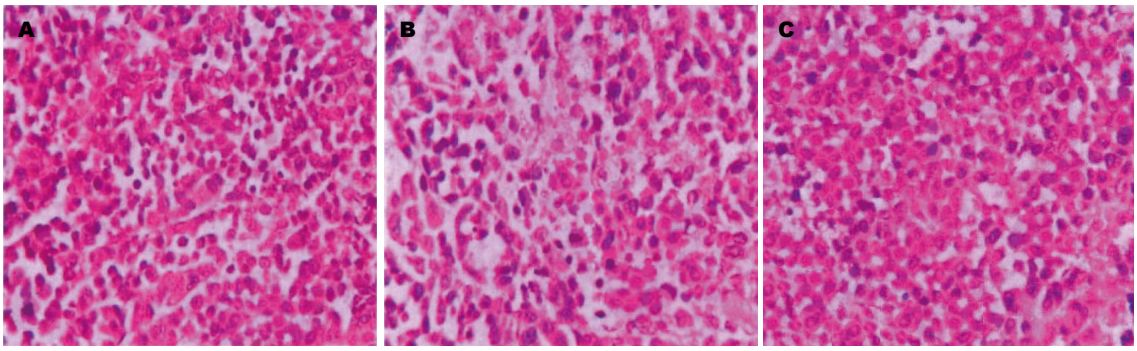


图 2 各组移植瘤组织细胞凋亡情况(HE × 200). A: 阴性对照组; B: 空白对照组; C: 转染SLP-2 siRNA组.

表 3 IHC法检测SLP-2 siRNA对SLP-2蛋白表达的影响 (mean ± SD)

分组	SLP-2染色积分	*F*值	*P*值
注射SLP-2 siRNA组	4.20 ± 1.31		
阴性对照组	8.20 ± 0.84	22.757	0
空白对照组	8.40 ± 1.14		

表 4 RT-PCR法检测SLP-2 siRNA对SLP-2 mRNA表达的影响 (mean ± SD)

分组	SLP-2/β-catin	*F*值	*P*值
注射SLP-2 siRNA组	0.74 ± 0.10		
阴性对照组	1.16 ± 0.10	33.572	0
空白对照组	1.11 ± 0.06		

子通道和细胞骨架之间的连接分子, 从而影响细胞信号传导通路和细胞骨架[6,7]. *SLP-2*基因定位于染色体9P13.1, 长约3250 bp, SLP-2蛋白具有*Stomatin*基因家族所共有的SPFH(stomatin/prohibitin/flotillin/hflk)结构域, 但不具有其他Stomatin家族成员所共有的N-端疏水结构域[2], 因此推测, SLP-2蛋白可能是一种细胞质膜相关蛋白, 但不直接整合到细胞膜脂质双层结构中, 可能作为外周膜蛋白起作用, 调控离子通道和脂筏结构[2,8]. 近年来关于线粒体的蛋白组学研究发现, SLP-2存在于细胞的线粒体中[9], 并与一些线粒体内膜相关蛋白有直接结合, 可能参与调节与其结合的线粒体膜相关蛋白的稳定性[10,11].

张立勇等[3]首次发现*SLP-2*基因在食管鳞状细胞癌中过表达, 并与肿瘤的发生、发展关系密切. 此后的一些研究表明, *SLP-2*基因在肺癌、子宫内膜癌、结直肠癌[12-17]等恶性肿瘤中也存在高表达. 推测其可能是一个新的癌基因. 在前期工作中, 我们发现*SLP-2*基因在胃癌组织中高表达. 基于以上研究结果, 本实验构建了胃癌细胞SGC-7901的裸鼠移植瘤模型, 观察SLP-2 siRNA对体内胃癌细胞的作用, 研究发现, SLP-2 siRNA能抑制裸鼠体内胃癌的生长, 但对细胞凋亡无明显影响.

因此我们认为SLP-2 siRNA能够抑制体内胃癌的生长, 对胃癌细胞的凋亡无明显影响, 且对裸鼠的生长并无影响. SLP-2在恶性肿瘤发生发展中的作用机制尚未明确, 推测可能与调节细胞信号传导通路及线粒体能量代谢有关. 近年来的研究表明, 细胞信号传导通路在细胞的分裂增殖及凋亡过程中发挥着重要作用, 传导通路的异常(异常活跃/传导受阻)会导致细胞生长、分裂和增殖等的异常, 可使细胞增殖失控, 凋亡受阻, 细胞的侵袭和转移能力增强. SLP-2蛋白作为一种膜相关蛋白, 与细胞信号通路密切相关, 可能通过对信号通路的调节参与恶性肿瘤的发生、发展. 有文献报道, SLP-2蛋白可能通过与Rho家族蛋白的相互作用, 参与细胞信号传导通路来调节肿瘤细胞的侵袭转移能力[18]; 祁代华等[15]的研究也显示, 结直肠癌组织中SLP-2和Rho家族CDC42蛋白表达呈正相关, 且与结直肠癌的Dukes分期、淋巴结转移相关. 此外, Hájek等[10]发现使用siRNA降低Hela细胞中SLP-2的表达量, 可以引起线粒体膜电势的降低. Wang等[5]的研究发现, 转染siRNA降低食管癌KYSE150细胞中SLP-2表达后, KYSE150细胞发生线粒体膜电势和ATP水平降低, 同时伴有细胞运动能力下降及细胞增殖能力减弱, 推测SLP-2可能通过影响细胞的能量代谢参与肿瘤细胞的增殖和转移. 目前对SLP-2的研究不多, 对SLP-2在恶性肿瘤中作用机制的研究仍处于起步阶段, 有待进一步探索.

■应用要点
本实验发现SLP-2 siRNA对体内胃癌细胞的增殖有抑制作用, 为寻找胃癌治疗的基因靶点提供了参考依据.

4 参考文献

1 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, For-

■同行评价
本文立题新颖, 相关报道不多, 具有一定指导意义.

man D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
2 Wang Y, Morrow JS. Identification and characterization of human SLP-2, a novel homologue of stomatin (band 7.2b) present in erythrocytes and other tissues. *J Biol Chem* 2000; 275: 8062-8071 [PMID: 10713127 DOI: 10.1074/jbc.275.11.8062]
3 张立勇, 王涛, 丁芳, 刘仲敏, 刘芝华, 李衍达. SLP-2基因在食管鳞癌中的差异表达及其生物信息学分析. 世界华人消化杂志 2004; 12: 1517-1521
4 张剑, 李建生, 赵晔. SLP-2在胃癌中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2012; 20: 1778-1781
5 Wang Y, Cao W, Yu Z, Liu Z. Downregulation of a mitochondria associated protein SLP-2 inhibits tumor cell motility, proliferation and enhances cell sensitivity to chemotherapeutic reagents. *Cancer Biol Ther* 2009; 8: 1651-1658 [PMID: 19597348]
6 Stewart GW, Hepworth-Jones BE, Keen JN, Dash BC, Argent AC, Casimir CM. Isolation of cDNA coding for an ubiquitous membrane protein deficient in high Na+, low K+ stomatocytic erythrocytes. *Blood* 1992; 79: 1593-1601 [PMID: 1547348]
7 Hiebl-Dirschmied CM, Entler B, Glotzmann C, Maurer-Fogy I, Stratowa C, Prohaska R. Cloning and nucleotide sequence of cDNA encoding human erythrocyte band 7 integral membrane protein. *Biochim Biophys Acta* 1991; 1090: 123-124 [PMID: 1883838 DOI: 10.1016/0167-4781(91)90047-P]
8 Sprenger RR, Speijer D, Back JW, De Koster CG, Pannekoek H, Horrevoets AJ. Comparative proteomics of human endothelial cell caveolae and rafts using two-dimensional gel electrophoresis and mass spectrometry. *Electrophoresis* 2004; 25: 156-172 [PMID: 14730580 DOI: 10.1002/elps.200305675]
9 Chevallet M, Lescuyer P, Diemer H, van Dorsselaer A, Leize-Wagner E, Rabilloud T. Alterations of the mitochondrial proteome caused by the absence of mitochondrial DNA: A proteomic view. *Electrophoresis* 2006; 27: 1574-1583 [PMID: 16548050]
10 Hájek P, Chomyn A, Attardi G. Identification of a novel mitochondrial complex containing mitofusin 2 and stomatin-like protein 2. *J Biol Chem* 2007; 282: 5670-5681 [PMID: 17121834 DOI: 10.1074/jbc.M608168200]
11 Da Cruz S, Parone PA, Gonzalo P, Bienvenut WV, Tondera D, Jourdain A, Quadroni M, Martinou JC. SLP-2 interacts with prohibitins in the mitochondrial inner membrane and contributes to their stability. *Biochim Biophys Acta* 2008; 1783: 904-911 [PMID: 18339324]
12 苏雷, 张建, 魏秀琴, 支修益, 许庆生, 刘芝华. slp2基因的差异表达与肺癌的分化和转移. 中国肿瘤临床 2005; 32: 678-680
13 Chang D, Ma K, Gong M, Cui Y, Liu ZH, Zhou XG, Zhou CN, Wang TY. SLP-2 overexpression is associated with tumour distant metastasis and poor prognosis in pulmonary squamous cell carcinoma. *Biomarkers* 2010; 15: 104-110 [PMID: 19839737 DOI: 10.3109/13547500903311910]
14 冯旺琴, 崔竹梅, 冯凤芝, 祈秀娟, 丁芳, 李文东, 刘芝华. SLP-2 mRNA在子宫内膜癌中的表达及其意义. 中华妇产科杂志 2005; 40: 553-557
15 祁代华, 李建生, 王康康. SLP-2和CDC42蛋白在结直肠癌组织中的表达及临床意义. 中华消化杂志 2009; 29: 191-192
16 曹文枫, 张立勇, 张斌, 王跃琦, 刘芝华, 孙保存. SLP-2蛋白在食管鳞状细胞癌中的表达及其与肿瘤侵袭转移的关系. 中华肿瘤杂志 2010; 32: 830-833
17 Cao W, Zhang B, Liu Y, Li H, Zhang S, Fu L, Niu Y, Ning L, Cao X, Liu Z, Sun B. High-level SLP-2 expression and HER-2/neu protein expression are associated with decreased breast cancer patient survival. *Am J Clin Pathol* 2007; 128: 430-436 [PMID: 17709317 DOI: 10.1309/C6X54HRB580EP2NQ]
18 Horiuchi A, Imai T, Wang C, Ohira S, Feng Y, Nikaido T, Konishi I. Up-regulation of small GTPases, RhoA and RhoC, is associated with tumor progression in ovarian carcinoma. *Lab Invest* 2003; 83: 861-870 [PMID: 12808121]

编辑 田滢 电编 闫晋利

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

• 消息 •

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

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

世界华人消化杂志 2013年6月28日; 21(18): 1745-1749
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

研究快报 RAPID COMMUNICATION

钙池操纵的Ca^{2+}通道对人肝癌细胞增殖的影响

陈 金, 于宏伟, 张宗明

陈金, 于宏伟, 张宗明, 清华大学医学院 北京市 100084
于宏伟, 张宗明, 首都医科大学电力教学医院普外科 北京市 100073
陈金, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的基础和临床研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81071996
作者贡献分布: 张宗明设计本课题; 陈金与于宏伟完成课题研究; 研究所用新试剂及分析工具由张宗明提供; 数据分析由陈金完成; 论文写作由张宗明与陈金完成.
通讯作者: 张宗明, 教授, 主任医师, 100084, 北京市中关村北大街, 清华大学医学院, 首都医科大学电力教学医院普外科.
zhangzongming@mail.tsinghua.edu.cn
收稿日期: 2013-04-19 修回日期: 2013-05-21
接受日期: 2013-05-25 在线出版日期: 2013-06-28

Effect of store-operated Ca^{2+} channels on proliferative activity of hepatoma cells

Jin Chen, Hong-Wei Yu, Zong-Ming Zhang

Jin Chen, Hong-Wei Yu, Zong-Ming Zhang, Medical School, Tsinghua University, Beijing 100084, China
Hong-Wei Yu, Zong-Ming Zhang, Beijing Electricity Teaching Hospital of Capital Medical University, Beijing 100073, China
Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 81071996
Correspondence to: Zong-Ming Zhang, Professor, Chief Physician, Medical School, Tsinghua University, Beijing Electricity Teaching Hospital of Capital Medical University, Beijing 100084, China. zhangzongming@mail.tsinghua.edu.cn
Received: 2013-04-19 Revised: 2013-05-21
Accepted: 2013-05-25 Published online: 2013-06-28

Abstract

AIM: To investigate the changes in the function of store-operated Ca^{2+} channels (SOCs) between human hepatoma cells and human liver cells and to dicuss the effect of SOCs on the proliferative ability of hepatoma cells.

METHODS: Cultured human hepatoma cells (SMMC7721) and human liver cells (HL7702) were used in this study. Membrant current of SOCs was detected using the patch-clamp technique. Intracellular free Ca^{2+} concentration was determined using laser scanning confocal microscopy. Cell proliferation was assessed by MTT assay, and cell cycle progression was detected by flow cytometry.

RESULTS: The SOC current density was significantly higher in human hepatoma cells than in human liver cells (19.36 pA/pF ± 4.99 pA/pF *vs* 8.90 pA/pF ± 2.78 pA/pF, $P < 0.05$). The increase in intracellular calcium fluorescence intensity was also significantly higher in human hepatoma cells than in human liver cells (31.81% ± 8.89% *vs* 21.58% ± 6.01%, $P < 0.05$). MTT growth curve showed that the proliferative ability of human hepatoma cells was significantly higher than that of human liver cells from the third day, and the difference was increasing with the prolongation of time. Flow cytometry analysis indicated that S-phase fraction (SPF) and proliferation index (PI) were significantly greater in human hepatoma cells than in human liver cells, suggesting that the proliferative ability of hepatoma cells is much high than that of human liver cells.

CONCLUSION: Compared to human liver cells, human hepatoma cells have significantly increased SOC current density, intracellular free Ca^{2+} concentration, and proliferative ability, indicating that the enhancement of proliferative ability of human hepatoma cells may be related to the enhancement of SOC function.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Human hepatoma cells; Human liver cells; store-operated Ca^{2+} channels

Chen J, Yu HW, Zhang ZM. Effect of store-operated Ca^{2+} channels on proliferative activity of hepatoma cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(18): 1745-1749 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1745.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i18.1745

摘要

目的: 对比研究人肝癌细胞与人正常肝细胞的钙池操纵的Ca^{2+}通道(store-operated Ca^{2+} channel, SOC)功能改变, 探讨SOC对肝癌细胞增殖能力的影响.

方法: 培养人肝癌细胞(SMMC7721)与人正常肝细胞(HL-7702), 应用膜片钳技术检测两组细胞的细胞膜SOC电流, 应用激光共聚焦显微镜检测两组细胞的细胞内游离Ca^{2+}离子浓

■背景资料
肝癌是最常见的恶性肿瘤之一, 其发生发展的分子机制尚不明确. Ca^{2+}池操纵的钙通道是常见的钙离子通道, 其在许多肿瘤中的功能都发生变化, 而其在肝癌中的变化并未有人去探讨, 本文旨在讨论其在肝癌细胞中的变化, 研究肝癌发生发展的机制, 同时为肝癌的分子治疗学提供一个新的方向.

■同行评议者
单云峰, 副主任医师, 温州医学院第一附属医院肝胆外科

■研发前沿
Ca^{2+}池操纵的钙通道是常见的钙离子通道, 也是在肿瘤学中目前很热门的一个研究方向, 而肝癌一直都是研究的重点肿瘤之一, 从离子通道的角度来研究肝癌的发生发展在是比较新的一个方向.

度, 应用MTT法检测两组细胞的增殖能力, 应用流式细胞仪检测两组细胞的增殖周期.

结果: 人肝癌细胞的SOC电流密度为19.36 pA/pF±4.9 pA/pF, 明显高于人正常肝细胞的电流密度8.90 pA/pF±2.78 pA/pF; 人肝癌细胞的细胞内钙荧光强度增加31.81%±8.89%, 明显高于人正常肝细胞的21.58%±6.01%; MTT生长曲线显示从第3天开始, 人肝癌细胞的增殖能力明显高于人正常肝细胞, 且时间越长, 增殖能力差别越大; 流式细胞仪研究提示人肝癌细胞的S期细胞比例(S-phase cells ratio, SPF)、增殖指数(proliferation index, PI)明显大于人正常肝细胞, 从而提示人肝癌细胞的增殖能力明显高于人肝细胞.

结论: 与人正常肝细胞相比, 人肝癌细胞的SOC电流密度增大、细胞内游离Ca^{2+}浓度升高、增殖能力增强, 提示人肝癌细胞增殖能力提高与其SOC功能增强有关.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 人肝癌细胞; 人正常肝细胞; 钙池操纵的钙通道

核心提示: 与人正常肝细胞相比, 人肝癌细胞Ca^{2+}池操纵的钙通道功能增强, 同时可能与人肝癌细胞增殖能力提高有一定关系. 这一研究结果为肝癌发生机制的探讨和治疗靶点提供了新的思路.

陈金, 于宏伟, 张宗明. 钙池操纵的Ca^{2+}通道对人肝癌细胞增殖的影响. 世界华人消化杂志 2013; 21(18): 1745-1749 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1745.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i18.1745

0 引言

肝癌是位居全球第5位、我国第2位的常见癌症. 目前, 全球每年有75万新增的肝癌患者. 我国发病人数约占全球的半数以上, 占全球肝癌病人的55%. 据最新统计, 肝癌是世界上死亡率第2的肿瘤, 同时其死亡率在全球在不断地上升[1,2]. 因此, 深入探讨肝癌的发生、发展机制十分必要. 诸多研究发现, 细胞Ca^{2+}稳态的破坏和肿瘤的发生、发展有密切关系, 肿瘤细胞的钙离子通道功能常发生改变[3,4]. 本实验拟对比研究人肝癌细胞与人正常肝细胞钙池操纵的Ca^{2+}通道(store-operated Ca^{2+} channel, SOC)功能改变, 探讨SOC对肝癌细胞增殖能力的影响.

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 细胞株及培养: 人肝癌细胞系SMMC7721、人肝细胞系HL7702购自武汉大学细胞保藏中心, 用含200 mL/L胎牛血清、100 kU/L青霉素、100 mg/L链霉素的RPMI 1640培养基在37 ℃、5%CO_2, 饱和湿度的培养箱中培养. 胎牛血清, 杭州四季青生物有限公司. Fluo4/AM、RPMI medium1640、DMSO、MTT、PI, 美国Invitrogen公司. Thapsigargin(Tg), 美国Merk公司. 电极内液: CsCl 150 mmol/L, $CaCl_2$ 0.5 mmol/L, D-glucose 135 mmol/L, HEPES 10 mmol/L, EGTA 1 mmol/L, pH7.2. 钙成像液: $NaHCO_3$ 2.3 mmol/L, Na_2SO_4 27 mmol/L, KCl 9.7 mmol/L, $MgCl_2$ 61.1 mmol/L, NaCl 366.7 mmol/L. 电极外液: NaCl 140 mmol/L, CsCl 4 mmol/L, $MgCl_2$ 2 mmol/L, $CaCl_2$ 10 mmol/L, D-glucose 10 mmol/L, HEPES 10 mmol/L, pH 7.4. 膜片钳放大系统及分析软件, 德国HEKA公司; Zeiss激光扫描共聚焦显微镜LSM710、流式细胞分析仪BD Calibur, 清华大学生物医学测试中心.

1.2 方法

1.2.1 细胞膜SOC电流测定: 应用全细胞膜片钳记录技术, 钳制电位0 mV, RAMP电位-100 mV-+100 mV, 电位时程100 ms, 每次间隔2 s, 持续600-1000 s.

1.2.2 细胞内游离Ca^{2+}浓度测定: 应用激光共聚焦显微镜, 激发波长488 nm, 发射波长525 nm, 每5 s测量细胞内钙浓度的变化: 首先在不含钙的记录液记录1 min, 加入2 μmol/L Tg记录3 min, 最后加入2 mmol/L $CaCl_2$记录2 min.

1.2.3 检测肝癌细胞与正常肝细胞的增殖能力改变: (1)MTT法检测细胞增殖能力: 将细胞以2×10^4/孔的密度接种到96孔细胞培养板中, 各组均设立12个复孔, 共有6个时间点, 细胞在37 ℃、5%CO_2培养箱中培养1-6 d, 每间隔24 h进行1次检测, 分别用四乙基偶氮唑盐(MTT, 5 mg/mL, 20 μL/孔)处理各组细胞3 h, 然后加入二甲基亚砜(DMSO, 150 μL/孔), 震荡10 min, 待形成的紫色结晶物充分溶解后, 用酶标仪于490 nm波长处测量每孔的吸光度(*A*)值. 细胞增殖能力以平均*A*值分析, 以*A*值为纵坐标, 时间(d)为横坐标, 绘制生长曲线; (2)流式细胞仪检测细胞增殖周期: 用0.25%的胰酶消化并收集细胞, 每检测管中(0.5-1.0)×10^6细胞, PBS清洗2次, 离心(1000 r/min, 5 min)弃上清, 缓慢加入70%的

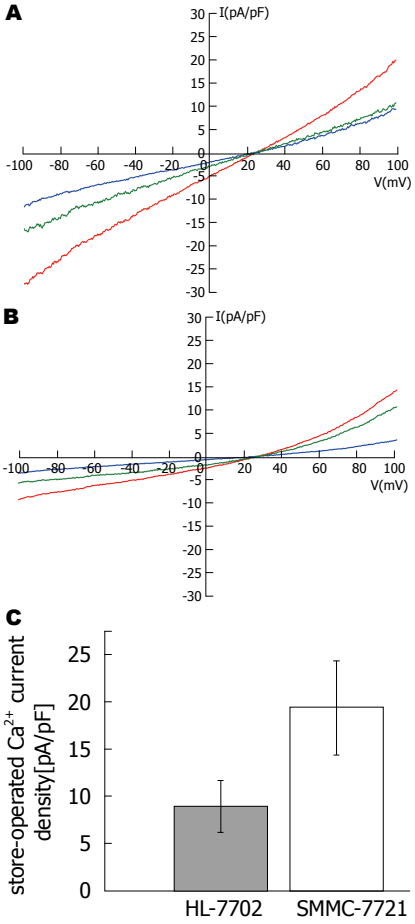


图 1 SMMC7721与HL7702细胞的SOC电流测定. A: SMMC7721细胞在2 μmol/L Tg诱导下记录的SOC, 红线表示细胞刚破膜时的电流, 蓝线表示SOC完全开放时的电流, 绿线表示二者相减得到的SOC电流; B: HL−7702细胞的SOC电流; C: 两种细胞的SOC电流密度. SOC: 钙池操纵的Ca^{2+}通道.

$$SPF = \frac{S}{G_1+S+G_2} \times 100\%$$

$$PI = \frac{S+G_2}{G_1+S+G_2} \times 100\%$$

乙醇, 混匀, -20 ℃固定过夜, 离心(1000 r/min, 5 min)弃上清, PBS清洗2次, 加入10 mg/mL的Rnase A 50 μL, 室温放置30 min, 再加入50 μg/mL的PI 800 μL, 4 ℃避光染色30 min, 用流式细胞仪进行细胞增殖周期检测.

统计学处理 实验数据采用SPSS18.0统计软件处理, 膜片钳数据以patchmaster软件采集, Ignor 6.2软件分析, 流式细胞仪数据以modfit 3.1软件分析, 各组间均数比较应用独立样本*t*检验, $P<0.05$被认为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 SMMC7721与HL7702细胞的SOC电流测定 SMMC7721与HL7702细胞的SOC电流记录(图1A, B). SMMC7721细胞的SOC电流密度为19.36 pA/pF±4.99 pA/pF(n = 18), 明显高于HL7702细胞的电流密度(8.90 pA/pF±2.78 pA/pF)(n = 17), 两组差异显著($P<0.05$)(图1C). 电流密度 = 电流峰值/细胞膜电容.

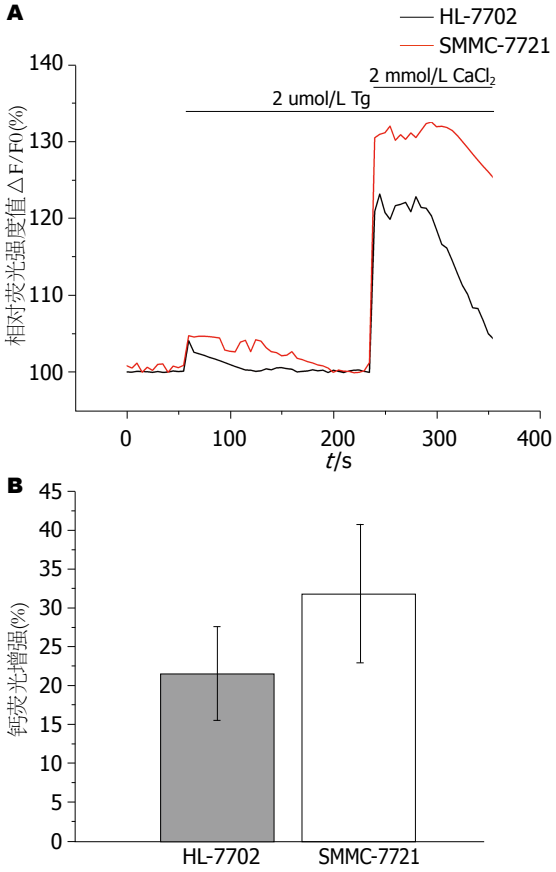


图 2 SMMC7721与HL7702细胞的钙荧光成像测定. A: 反应细胞内钙浓度随时间的变化; B: 加入$CaCl_2$后单位时间内钙荧光上升的百分比.

2.2 SMMC7721与HL7702细胞的游离Ca^{2+}浓度测定 细胞内游离钙离子浓度用相对荧光强度值△F/F0表示, F0为在1 min内不含钙记录液中得到的基线强度, △F为实际测到的荧光值, 首先在不含钙的记录液中记录, 加入2 μmol/L Tg后, 出现一个由Tg抑制内质网钙泵出现的钙浓度升高峰, 加入2 mmol/L $CaCl_2$后, 出现SOC开放导致的细胞内钙浓度高峰. 细胞内钙离子浓度的变化见图2A. 细胞内钙荧光增强(%) = 加入$CaCl_2$后单位时间内钙荧光增加值/加入$CaCl_2$前钙荧光值. 结果显示SMMC7721细胞的胞内钙荧光增强幅度为31.81%±8.89%(n = 18), HL7702细胞为21.58%±6.01%(n = 11), 两组差异有统计学意义($P<0.05$)(图2B).

2.3 SMMC7721与HL7702细胞的增殖能力和增殖周期检测

■创新盘点

本文选择了肝癌细胞, 目前尚未有关对Ca^{2+}池操纵的钙通道是常见的钙离子通道在此肿瘤中的变化进行分析研究, 而本文除采用MTT经典实验方法外, 所采用的膜片钳技术、共聚焦显微镜技术以及流式细胞仪技术是目前比较新的有效的实验方法.

■应用要点

本文提出Ca^{2+}池操纵的钙通道在肝癌细胞中的功能有所增强，并提出Ca^{2+}池操纵的钙通道可能会促进肝癌细胞的增殖，这不但对肝癌发生发展从分子水平上提出了一个新的方向，而且对于以后研究肝癌治疗的药物提出了一个新的方向.

表 1 SMMC7721与HL7702细胞增殖周期表

分组	细胞周期(%)				
	G_1	S	G_2	PI	SPF
HL7702	58.50 ± 0.69[b]	28.31 ± 0.60[b]	13.16 ± 0.25[b]	41.47 ± 0.70[b]	28.31 ± 0.60[b]
SMMC7721	54.67 ± 0.62	35.34 ± 0.70	9.99 ± 0.13	45.33 ± 0.62	35.34 ± 0.70

[b]P<0.01 *vs* SMMC7721.

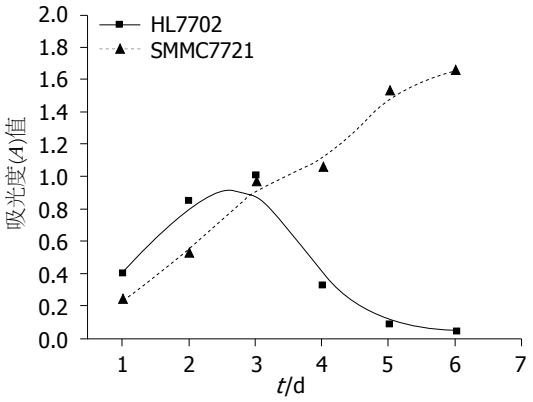


图 3 SMMC7721与HL7702细胞的生长曲线.

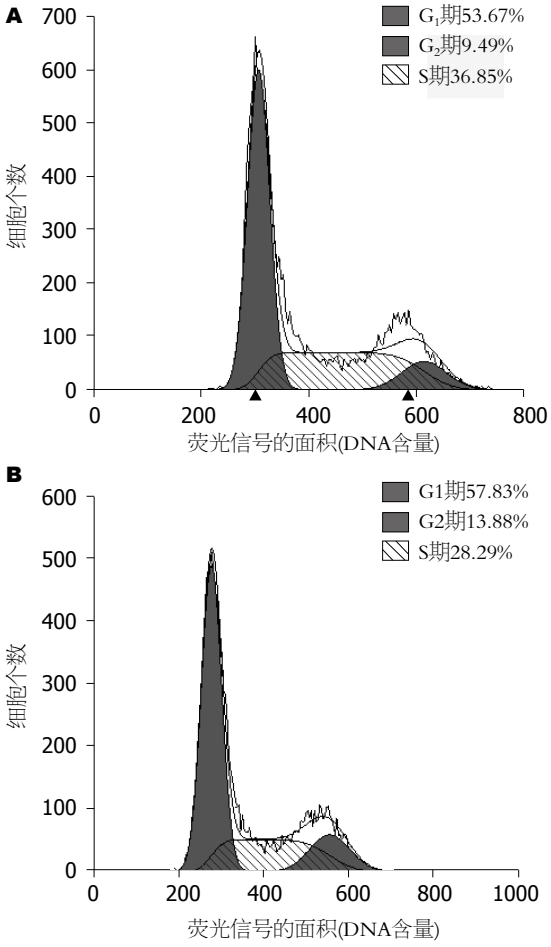


图 4 SMMC7721与HL7702细胞的增殖周期. A: 人肝癌细胞SMMC7721. B: 人肝细胞HL7702.

2.3.1 MTT法检测两组细胞的增殖能力: MTT法检测结果显示, 第1-3天, 人肝癌细胞SMMC7721的增殖速度略低于人肝细胞. 从第3天开始, 人肝癌细胞SMMC7721组的增殖速度明显高于人肝细胞HL-7702组, 随着时间的增加, 增殖能力的差异越来越大. 对两组细胞每天的A值进行t检验, 均P<0.05, 差异有统计学意义(图3).

2.3.2 流式细胞仪检测两组细胞的增殖周期: 人肝癌细胞SMMC7721与人肝细胞HL7702相比, S期细胞比例S期细胞比例(S-phase cells ratio, SPF)、增殖指数(proliferation index, PI)明显增加, G_1、G_2明显减少, 均P<0.01, 有统计学意义(表1). 细胞的增殖能力主要由SPF、PI来决定, 因此, 可见人肝癌细胞SMMC7721增殖能力明显强于人肝细胞HL7702. 流式细胞仪检测结果见图4.

3 讨论

Ca^{2+}作为细胞内最重要的第二信使之一, 参与着细胞的生存、增殖、死亡等关键的生理过程, 其稳态主要是由细胞内的钙池和细胞外的钙离子平衡调控[5]. 细胞内Ca^{2+}稳态失衡, 对肿瘤细胞的增殖、转移、凋亡等一系列过程都有重要影响. SOC是非兴奋细胞Ca^{2+}内流的主要通道之一. 近年越来越多的研究显示, 许多肿瘤的发生常伴有Ca^{2+}通道功能的异常[6-8], McAndrew等[9]研究发现, 在乳腺癌患者中, SOC通道蛋白Orai1表达增加, 介导的钙离子内流增加. 作为人肝癌细胞Ca^{2+}内流的主要通道[5], SOC在人肝癌细胞中的功能是否有明显变化, SOC与肝癌细胞的增殖有无关系, 目前尚未见有关报道.

本实验采用膜片钳方法检测人肝癌细胞SOC通道的电流, 并与人正常肝细胞进行比较, 结果显示人肝癌细胞的电流密度明显高于人正常肝细胞, 提示人肝癌细胞SOC通道功能明显高于人正常肝细胞. 本实验以共聚焦显微镜动态观测细胞内游离Ca^{2+}浓度, 结果发现人肝癌细胞内的游离Ca^{2+}浓度明显高于人正常肝细胞. 为进

一步证实人肝癌细胞SMMC7721组的增殖能力确实较人肝细胞HL7702组有较大的增强, 本实验采用MTT和流式细胞仪分别检测细胞增殖能力和增殖周期, 均提示人肝癌细胞SMMC7721组较人肝细胞HL7702组处于高增殖状态.

有研究报道, 胞内Ca^{2+}增加能够影响细胞内活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)水平, 促使细胞内ROS水平轻度增加, 激活PKB和ERK磷酸化信号通路, 促进转录因子AP-1和核因子κB(nuclear factor κB, NF-κB)的活化, 抑制p53的表达, 促进细胞的过度增殖[10]. 我们的研究结果显示, 人肝癌细胞的SOC通道功能较人肝细胞SOC功能增强, 细胞内Ca^{2+}增加程度明显, 细胞增殖能力增强, 因此, 可以推论人肝癌细胞增殖能力增强与SOC功能增强有关. 细胞周期中, Ca^{2+}对促使细胞脱离G_0期[11]和G_1期细胞周期素蛋白CyclinD1[12,13]的适当表达都发挥着重要作用. 有研究提出, *Bid*基因可以诱导大鼠细胞钙库耗竭从而导致细胞膜上的SOC开放, 使胞内Ca^{2+}短暂性大量增加[14]. 随着细胞内Ca^{2+}的迅速增多, 细胞周期素CyclinD1过度表达, CyclinD1-CDK复合物增多, 大量CDK4被磷酸化激活, 使其介导的Rb磷酸化途径激活, 从而促使肿瘤细胞迅速增殖[15,16].

总之, 与人正常肝细胞相比, 人肝癌细胞的SOC电流密度增大、细胞内游离Ca^{2+}浓度升高、增殖能力增强, 提示人肝癌细胞增殖能力提高与其SOC功能增强有关. 这一研究结果为肝癌发生机制的探讨和治疗靶点提供了新的思路.

4 参考文献

1 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
2 Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2012; 62: 10-29 [PMID: 22237781]
3 Capiod T, Shuba Y, Skryma R, Prevarskaya N. Calcium signalling and cancer cell growth. *Subcell Biochem* 2007; 45: 405-427 [PMID: 18193646]
4 Monteith GR, McAndrew D, Faddy HM, Roberts-Thomson SJ. Calcium and cancer: targeting Ca2+ transport. *Nat Rev Cancer* 2007; 7: 519-530 [PMID: 17585332 DOI: 10.1038/nrc2171]
5 Munaron L, Antoniotti S, Fiorio Pla A, Lovisolo D. Blocking Ca2+entry: a way to control cell proliferation. *Curr Med Chem* 2004; 11: 1533-1543 [PMID: 15180562 DOI: 10.2174/0929867043365008]
6 Enfissi A, Prigent S, Colosetti P, Capiod T. The blocking of capacitative calcium entry by 2-aminoethyl diphenylborate (2-APB) and carboxyamidotriazole (CAI) inhibits proliferation in Hep G2 and Huh-7 human hepatoma cells. *Cell Calcium* 2004; 36: 459-467 [PMID: 15488595]
7 Monteith GR, Davis FM, Roberts-Thomson SJ. Calcium channels and pumps in cancer: changes and consequences. *J Biol Chem* 2012; 287: 31666-31673 [PMID: 22822055 DOI: 10.1074/jbc.R112.343061]
8 Lee JM, Davis FM, Roberts-Thomson SJ, Monteith GR. Ion channels and transporters in cancer. 4. Remodeling of Ca(2+) signaling in tumorigenesis: role of Ca(2+) transport. *Am J Physiol Cell Physiol* 2011; 301: C969-C976 [PMID: 21593447 DOI: 10.1152/ajpcell.00136]
9 McAndrew D, Grice DM, Peters AA, Davis FM, Stewart T, Rice M, Smart CE, Brown MA, Kenny PA, Roberts-Thomson SJ, Monteith GR. ORAI1-mediated calcium influx in lactation and in breast cancer. *Mol Cancer Ther* 2011; 10: 448-460 [PMID: 21224390 DOI: 10.1158/1535-7163]
10 Jones RG, Bui T, White C, Madesh M, Krawczyk CM, Lindsten T, Hawkins BJ, Kubek S, Frauwirth KA, Wang YL, Conway SJ, Roderick HL, Bootman MD, Shen H, Foskett JK, Thompson CB. The proapoptotic factors Bax and Bak regulate T Cell proliferation through control of endoplasmic reticulum Ca(2+) homeostasis. *Immunity* 2007; 27: 268-280 [PMID: 17692540 DOI: 10.1016/j.immuni.2007.05.023]
11 Cheng G, Liu BF, Yu Y, Diglio C, Kuo TH. The exit from G(0) into the cell cycle requires and is controlled by sarco(endo)plasmic reticulum Ca2+ pump. *Arch Biochem Biophys* 1996; 329: 65-72 [PMID: 8619636]
12 Simon VR, Moran MF. SERCA activity is required for timely progression through G1/S. *Cell Prolif* 2001; 34: 15-30 [PMID: 11284916]
13 Lee MY, Lee SH, Kim YH, Heo JS, Park SH, Lee JH, Han HJ. Effect of EGF on [3H]-thymidine incorporation and cell cycle regulatory proteins in primary cultured chicken hepatocytes: Involvement of Ca2+/PKC and MAPKs. *J Cell Biochem* 2006; 99: 1677-1687 [PMID: 16823772 DOI: 10.1002/jcb.21026]
14 Ni HM, Baty CJ, Li N, Ding WX, Gao W, Li M, Chen X, Ma J, Michalopoulos GK, Yin XM. Bid agonist regulates murine hepatocyte proliferation by controlling endoplasmic reticulum calcium homeostasis. *Hepatology* 2010; 52: 338-348 [PMID: 20578150 DOI: 10.1002/hep.23672]
15 Kahl CR, Means AR. Regulation of cell cycle progression by calcium/calmodulin-dependent pathways. *Endocr Rev* 2003; 24: 719-736 [PMID: 14671000 DOI: 10.1210/er.2003-0008]
16 Kahl CR, Means AR. Calcineurin regulates cyclin D1 accumulation in growth-stimulated fibroblasts. *Mol Biol Cell* 2004; 15: 1833-1842 [PMID: 14767060 DOI: 10.1091/mbc.E03-10-0730]

■同行评价

本文拟研究钙池操纵的Ca^{2+}通道对人肝癌细胞增殖的影响, 选题比较新颖, 具有一定指导意义.

编辑 田滢 电编 闫晋利

世界华人消化杂志 2013年6月28日; 21(18): 1750-1754
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

盐酸右美托咪定辅助七氟醚在食管镜检查中的应用60例

周婉舒, 刘德功

■背景资料
食管镜在临床上被广泛用于上消化道疾病的检查和诊断, 同时在食道异物的取出中扮演着重要的角色, 还有吸出农药中毒患者胃内容残留药品和食物残渣的作用. 但由于食管镜的操作方式让许多患者抗拒, 所以寻找合适的配合食管镜检查的麻醉方法是非常有意义的.

周婉舒, 清华大学医学院 北京市 100084
刘德功, 胜利油田中心医院麻醉科 山东省东营市 257000
周婉舒, 在读硕士, 主要从事外科麻醉的临床研究.
作者贡献分布: 周婉舒为此文献主要贡献者; 此课题由周婉舒设计及操作完成; 课题所用试剂及分析工具及手术场所由刘德功提供; 数据分析由周婉舒完成; 本论文写作由周婉舒完成.
通讯作者: 周婉舒, 100084, 中关村北大街, 清华大学医学院. zws07@mails.tsinghua.edu.cn
收稿日期: 2013-05-08 修回日期: 2013-05-22
接受日期: 2013-05-25 在线出版日期: 2013-06-28

Use of dexmedetomidine in patients undergoing esophagoscopy

Wan-Shu Zhou, De-Gong Liu

Wan-Shu Zhou, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100084, China
De-Gong Liu, Department of Anesthesiology, Central Hospital of Shengli Oil Field, Dongying 257000, Shandong Province, China
Correspondence to: Wan-Shu Zhou, School of Medicine, Tsinghua University, Zhongguancun North Street, Beijing 100084, China. zws07@mails.tsinghua.edu.cn
Received: 2013-05-08 Revised: 2013-05-22
Accepted: 2013-05-25 Published online: 2013-06-28

Abstract

AIM: To explore the use of dexmedetomidine in patients undergoing esophagoscopy.

METHODS: Patients who underwent esophagoscopy were randomly divided into a control group and a DEX group. Anesthesia was maintained in all subjects with 2% sevoflurane under spontaneous breathing. The DEX group was intravenously injected with dexmedetomidine 0.5 μg/kg 10 min before anesthesia, while the control group was injected with equal volume of saline. Blood pressure, heart rate, and bispectral index (BIS) were monitored in both groups.

RESULTS: The mean arterial pressure at T2-T6 were significantly lower in the DEX group than in the control group (106 mmHg ± 6 mmHg *vs* 122 mmHg ± 7 mmHg, 101 mmHg ± 3 mmHg *vs* 120 mmHg ± 4 mmHg, 101 mmHg ± 4 mmHg *vs* 120 mmHg ± 5 mmHg, 101 mmHg ± 5 mmHg *vs* 122 mmHg ± 7 mmHg, 96 mmHg ± 2 mmHg *vs* 128 mmHg ± 6 mmHg all $P < 0.05$). The heart rate at T2-T4 were significantly decreased in the DEX group compared to the control group(71 bpm ± 10 bpm *vs* 78 bpm ± 10 bpm, 71 bpm ± 9 bpm *vs* 78 bpm ± 7 bpm, 71 bpm ± 7 bpm *vs* 78 bpm ± 8 bpm, all $P < 0.01$). The heart rate at T6 was also significantly lower in the DEX group than in the control group (67 bpm ± 6 bpm *vs* 71 bpm ± 8 bpm, $P < 0.05$). The BIS at T2-T6 was significantly lower in the DEX group than in the control group (57.15 ± 6.19 *vs* 60.15 ± 4.14, 55.80 ± 8.75 *vs* 93.45 ± 6.57, 80.25 ± 4.37 *vs* 60.45 ± 7.9, all $P < 0.05$). The time when BIS was lower than or equal to 50 was longer in the DEX group than in the control group. The incidence of bradycardia was higher in the DEX group than in the control group ($P < 0.05$). Dysphoria occurred in three patients of the control group A, but did not occur in the DEX group. The incidence of dysphoria was lower in the DEX group, and patient compliance was better in the DEX group ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Use of dexmedetomidine in patients undergoing esophagoscopy can help keep stable vital signs and obtain good patient compliance.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Dexmedetomidine; Sevoflurane; Esophagoscopy

Zhou WS, Liu DG. Use of dexmedetomidine in patients undergoing esophagoscopy. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(18): 1750-1754 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1750.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i18.1750

摘要

目的: 研究盐酸右美托咪定(dexmedetomidine, Dex)辅助七氟醚在食管镜检查中的效果.

方法: 将60例择期行食管镜检查的患者随机分为对照组和右美托咪定组, 两组均保持自助呼吸, 吸入七氟醚浓度2%, 右美组吸入七氟醚前10 min先静脉输入右美0.5 μg/kg; 对照组泵注等量生理盐水作对照, 二组密切观察血压、

■同行评议者
薛东波, 教授, 哈尔滨医科大学附属第一医院

心率、脑电双频指数(bispectral index, BIS).

结果: 组间比较: B组患者平均动脉压(mean artery pressure, MAP)在T2为106 mmHg±6 mmHg、T3为101 mmHg±3 mmHg、T4为101 mmHg±4 mmHg、T5为101 mmHg±5 mmHg、T6为96 mmHg±2 mmHg, A组患者MAP在T2为122 mmHg±7 mmHg、T3为120 mmHg±4 mmHg、T4为120 mmHg±5 mmHg、T5为122 mmHg±7 mmHg、T6为128 mmHg±6 mmHg, B较A组明显降低(P<0.05). B组患者心率(heart rate, HR)R在T2为71 bpm±7 bpm、T3为71 bpm±9 bpm、T4为71 bpm±10 bpm, A组患者HR在T2为78 bpm±10 bpm、T3为78 bpm±7 bpm、T4为78 bpm±8 bpm, T2、T3、T4时B组HR较A组明显降低(P<0.01), T6时B组HR为67 bpm±6 bpm、A组HR为71 bpm±8 bpm, B组明显降低(P<0.05). B组BIS值T2、T4、T6为57.15±6.19、55.80±8.75、80.25±4.37, A组相应值为60.15±4.14、93.45±6.57、60.45±7.90, B较A组明显降低(P<0.05), B组患者BIS值≤50的时间比A组长(P<0.05), 诱导过程中B组4例心动过缓发生率高于A组(P<0.05); A组苏醒期有3例躁动发生率高于B组(P<0.05). 右美托定组血流动力学稳定, 患者配合度好.

结论: Dex用于食管镜检查, 患者更容易配合操作, 且生命体征平稳, 一般情况良好.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 右美托咪定; 食管镜检查术; 七氟醚

核心提示: 根据盐酸右美托咪定(dexmedetomidine, Dex)的药理作用和以往有关报道, 研究Dex辅助七氟醚在食管镜检查中的效果, 设计操作流程, 对右美组和对照组进行平均动脉压(mean artery pressure)、心率(heart rate)、脑电双频指数(bispectral index)的监测, 分析数据, 更加透彻的了解高选择性的α2-肾上腺素受体(α2-adrenergic receptor)激动药Dex的药理作用, 增加食管镜等侵入性检查操作的可控性和安全性.

周婉舒, 刘德功. 盐酸右美托咪定辅助七氟醚在食管镜检查中的应用60例. 世界华人消化杂志 2013; 21(18): 1750-1754
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1750.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i18.1750

0 引言

食管镜检查对上消化道疾病的早期诊断和治疗有着十分重要的作用. 同时, 食管镜下行食道异物取出, 也是耳鼻喉科的常规手术[1]. 食管镜还可以应用于有机磷农药中毒患者插入洗胃管困难的情况, 可以用食管镜吸出胃内农药及食物残渣[2]. 所以, 熟悉食管镜的操作, 寻找合适的配合食管镜操作的麻醉方法是非常有必要的. 吸入麻醉药七氟醚具有是新型吸入麻醉药, 诱导时使用相对较快, 因为是吸入性气体苏醒也比较快, 而且无味易控制, 一般生命体征较平稳, 有一定的镇痛和肌松作用等优点, 是比较理想的吸入麻醉剂[3,4]. 单纯吸入七氟醚麻醉用于食管镜检查尚不能很好的消除不良应激反应. 故仍需通过复合使用其他药物来辅助麻醉. 盐酸右美托咪定(dexmedetomidine, Dex)是新型的高选择性α2-肾上腺素受(α2-adrenergic receptor, α2-AR)激动药, 具有镇静、镇痛和抗焦虑等作用, 可以作为麻醉诱导和麻醉维持用药[5]. 本研究拟评价Dex辅助七氟醚麻醉用于食管镜检查的麻醉效果, 为临床提供参考.

■研发前沿
本研究领域的热点重点为吸入麻醉药七氟醚和静脉麻醉药丙泊酚、瑞芬太尼, 还有右美托咪定(dexmedetomidine, Dex)等作为配合操作麻醉药品应用, 寻找使整个操作过程中患者各项生命体征更加平稳、更能耐受检查操作、及术后回复平稳无躁动的方法.

1 材料和方法

1.1 材料 选取胜利油田中心医院行食管镜检查的患者60例, ASA Ⅰ-Ⅱ级, 年龄21-60岁, 体质量指数18-25 kg/m^2. 排除标准: 常规心电图(electrocardiogram, ECG)异常; 心梗及脑梗病史; 高血压; 术前应用α2受体激动剂或拮抗剂; 反流高危因素者; 肝肾功能异常; 糖尿病病史; 严重的酗酒史; 中枢神经系统疾病史; 对麻醉药物过敏; 听力异常者. 将患者无差异分为对照组Ⅰ组和右美组Ⅱ组每组30例, 各个指标如麻醉分级、体质量、病史、年龄中差别无统计学意义.

1.2 方法

1.2.1 麻醉: 患者禁饮食8 h, 术前30 min肌注阿托品0.5 mg. 入室后常规开放静脉, 并于麻醉诱导前输注复方乳酸钠林格氏液8-10 mL/kg, 连接麻醉多功能监护仪(BeneView T8, 迈瑞公司)常规监测生命体征. 两组均应用半紧闭循环回路吸入七氟醚(批号: 12011531, 上海恒瑞制药有限公司)诱导. 麻醉诱导前排空储气囊内气体, 氧流量调整为6 L/min, 把Sevoflurane Drager Vapor 2000型七氟醚挥发罐(Baxter公司, 美国)浓度调至2%, 吸入诱导, 保持自助呼吸; B组患者吸入七氟醚前10 min, 先静脉通过输液泵(北京思路高公司)输注右美托咪啶(批号: 4587, 江苏恒瑞, 浓度: 4 μg/mL)0.5 μg/kg; A组(对照组)泵注等量生理盐水作对照, 二组当脑电双频指数(bispectral index, BIS)值低于60密切观察, 保持自主呼吸.

■创新盘点

本文为右美辅助七氟醚应用于食管镜检查方法的研究，这方面的报道比较还比较少见，不同于以往Dex用于手术应激的研究，本文将Dex用于提高检查的安全性和可操作性，拓展了Dex的用途，对提示α2受体激动剂的药理作用和临床价值有比较深远的意义.

表 1 2组患者一般情况比较 (n = 30, mean ± SD)

分组	年龄(岁)	身高(cm)	体质量(kg)	检查时间(min)
A组	47 ± 9	162 ± 5	66 ± 10	27 ± 23
B组	47 ± 10	160 ± 4	67 ± 10	25 ± 16

A组: 对照组; B组: 患者吸入七氟醚前10 min.

表 2 2组患者麻醉术中血流动力学、脑电双频指数变化比较 (n = 30, mean ± SD)

指标		分组					
		T1	T2	T3	T4	T5	T6
平均动脉压	A组	130 ± 4	122 ± 7[a]	120 ± 4[a]	120 ± 5[a]	122 ± 7[a]	128 ± 6
(mmHg)	B组	133 ± 3	106 ± 6[ac]	101 ± 3[ac]	101 ± 4[ac]	101 ± 5[ac]	96 ± 2[ac]
心率(bpm)	A组	70 ± 8	78 ± 10[a]	78 ± 7[a]	78 ± 8[a]	67 ± 8	71 ± 8
	B组	67 ± 10	71 ± 7[ad]	71 ± 9[d]	71 ± 10[d]	70 ± 7	67 ± 6[c]
脑电双频指数	A组	94.75 ± 1.21	60.15 ± 4.14[a]	61.55 ± 8.89[a]	60.45 ± 7.9[a]	61.35 ± 8.14[a]	93.45 ± 6.57
	B组	93.85 ± 1.76	57.15 ± 6.19[ac]	60.80 ± 7.75[a]	55.80 ± 8.75[ac]	58.95 ± 7.28[a]	80.25 ± 4.37[ac]

[a]P<0.05 *vs* T1; [c]P<0.05 *vs* A组; [d]P<0.01 *vs* A组. A组: 对照组; B组: 患者吸入七氟醚前10 min; T1: 患者进入检查室平卧休息10 min时; T2: 食管镜进入咽喉时; T3: 食管镜进入第二狭窄时; T4: 食管镜进入第三狭窄时; T5: 拔出食管镜时; T6: 患者被唤醒后休息5 min时.

1.2.2 麻醉维持: 二组维持吸入七氟醚浓度为3 MAC, 氧流量1 L/min, 患者均保留自主呼吸, 必要时控制呼吸, 维持Pet-CO235-45之间, 术中低血压(收缩压较基础值降低>25%或收缩压绝对值<90 mmHg)给予麻黄素5-10 mg, 心动过缓[心率(heart rate, HR)<50次/min]给予阿托品0.5 mg. 当检查结束时, 停止吸入和注入药品, 观察患者呼吸情况和意识清醒状况, 待完全清醒后离室.

1.2.3 监测和观察项目: 记录二组患者入睡时间及BIS值达到或低于60时间, 整个检查过程分为5个时间点, T1: 为患者进入检查室平卧休息10 min时; T2: 食管镜进入咽喉时; T3: 食管镜进入第二狭窄时; T4: 食管镜进入第三狭窄时; T5: 拔出食管镜时; T6: 患者被唤醒后休息5 min时, 记录各时点平均动脉压(mean artery pressure, MAP)、HR、BIS值; 观察记录麻醉过程有无心动过缓, 低血压, 躁动(无意识的肢体屈曲或抬头等)恶心呕吐等不良反应的发生情况及患者清醒时间.

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件, 组内比较采用重复测量数据的方差分析, 组间比较采用两样本t检验, 计数资料采用χ^2检验. P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

二组患者一般情况比较差异均无统计学意义(P>0.05)(表1). AB组间比较采用两样本t检验, 计数资料采用χ^2检验, 组内比较采用重复测量数据的方差分析,

二组患者麻醉术中血流动力学、BIS变化(表2)比较: 组内比较: 采用重复测量数据的方差分析, A组T2、T3、T4、T5时点较T1时点MAP、BIS显著降低, 差异有显著性P<0.05, B组T2、T3、T4、T5时点较T1时点MAP、BIS显著降低, 差异有显著性P<0.05, B组T2、T3、T4、T5时点HR变化不明显P>0.05, A组HR在T2T3T4较T1明显增高.

组间比较: 采用两样本t检验, 计数资料采用χ^2检验, 二组患者T1时MAP、HR、BIS值无显著统计学差异(P>0.05). B组患者在T2、T3、T4、T5时点MAP, HR较A组明显降低(P<0.05), B组BIS值T4T5时点较A组明显降低(P<0.05), A组B组BIS值≤50, 时间分别为48 s±23 s和111 s±28 s, 与A组相比, B组患者BIS值≤50, 时间较长(P<0.05), 诱导过程中B组4例心动过缓发生率高于A组和(P<0.05); A组苏醒期有3例躁动发生率高于B组(P<0.05).

3 讨论

食管镜是检查食道疾病的一种直观准确的方法. 食管镜作为侵入性检查项目患者的情绪非常影响操作, 恐惧害怕会首先影响患者的配合, 吞咽的痛苦会让患者抗拒继续操作. 从前的麻醉方

法是采用局麻, 但这样操作的后果是患者配合度比较低, 不能耐受整个检查过程的也不少见. 而目前临床上用的比较多的方法是通过静脉注射麻醉药品来配合操作, 丙泊酚是比较经常被采纳的药品. 但用此种方法也有他的缺点, 比如循环系统方面, 这种直接静脉输入丙泊酚的方法会产生比较严重的循环系统抑制, 而且光靠静脉注入, 在调控麻醉深度方面也有困难. 而七氟醚弥补了这些缺点, 这种新型的吸入麻醉药品诱导快, 可能是血气分配系数低的缘故. 也因为是气体, 苏醒也比较快. 七氟醚是无色无味的气体, 对循环的干扰比较小, 且容易调节麻醉深度, 有镇痛和肌松作用等优点, 有报道可以用于食管镜检查的麻醉. 但单纯应用七氟醚诱导可能产生不愉快反应如屏气、呛咳、头部和肢体不自主活动甚至喉痉挛的发生[6], 且单凭七氟醚全麻诱导尚不能很好的消除不良应激反应[7], 所以可以再辅助一些别的药品, 即采取联合用药的方法来取长补短. 一般我们复合的药品常常是阿片类药品.

Dex是高效和高选择性的α2-AR激动药, 具有镇静、镇痛、抗焦虑等作用, 可抑制应激反应引起的血浆儿茶酚胺浓度升高, 使诱导过程更加平稳, 亦可减轻七氟醚麻醉后躁动程度[5], 目前已广泛应用于围术期. 在清醒侵入操作中有报道的先例, Chu等[8]对清醒经鼻气管插管的随机对比研究, 结果表明Dex组较芬太尼组患者的更好耐受刺激配合操作, 在操作过程中血流动力学反应更稳定. 但辅助七氟醚应用于食管镜镜检查尚未见报道.

本研究显示, B组患者诱导时更加合作地配合医生的指令, 在吸入同等MAC值时, 复合组BIS值达到60值低于对照组, 表明Dex复合七氟醚诱导有协同效应, 主要原因可能是Dex具有良好的镇静镇痛作用, 可缩短七氟醚兴奋期, 进而加速麻醉诱导时间. 本研究显示B组A组相比, 麻醉过程B组血压, 心率明显减慢, 说明Dex能明显抑制中枢交感神经活性, 这在应付手术应激中是非常重要的. 比如在全麻手术中右美的应用, 全麻期间持续给予Dex可有效降低患者围术期血糖、血浆β-EP、血清肿瘤坏死因子-α和白介素-6水平, 抑制围术期应激反应[9,10].

虽然右美能增加副交感神经的活性, 会有很多利于手术的情况表现出来, 比如造成心率减慢, 但报道和实验都表明尽管有下降, 但波动的幅度不是不能接受, 是在临床允许范围. 本研究结果与吴新民等[11]研究报道一致. 在麻醉维持过程中, 本研究两组患者均吸入相同MAC值七氟醚, 结果显示复合组BIS值较对照组较低, 提示复合组可以通过降低吸入麻醉浓度达到与对照组同等麻醉深度, 从而较减少吸入麻醉剂, 单凭七氟醚吸入麻醉与Dex复合七氟醚麻醉均能较好的维持患者血流动力学的相对稳定, 但B组较A组在全麻过程中血流动力学指数更稳定. 两组患者苏醒时间无显著差异, 对照组苏醒时躁动较复合组发生率高, 显示Dex能减低七氟醚苏醒期躁动, 可能与其镇静, 镇痛作用有关. 对照组患者拔出腔镜后由于检查刺激剧烈咳嗽较复合Dex组多, 复合Dex组检查完毕清醒后无一例剧烈咳嗽. 这与在手术结束时应用右美的报道结果相同, 手术结束前30 min静脉输注1 μg/mL的Dex活手术结束前5 min静注0.5 μg/kg可以稳定患者的血流动力学, 有效减轻围拔管器的心血管反应, 提高患者气管导管耐受性, 没有呼吸抑制, 从而不影响术后恢复时间, 使患者顺利舒适度过拔管期[12]. 同时用于食管镜检查, 减少分泌物也是选择药品指标之一, 一项研究发现右美和氯胺酮联合运用时, 右美可明显减少由氯胺酮引起的血压增高, 心率增快和口腔分泌物增加[13].

进一步讨论右美应用于侵入性操作的优点, 比如降低寒战发生率. 在一个随机对照实验中, 研究者发现术前给1 μg/kg Dex可以明显减少患者术后寒战发生率, 证实右美具有抗寒战作用[14]. Usta等[15]在行脊髓麻醉患者中使用右美作为辅助用药(负荷量为1 μg/kg, 输注10 min, 维持速度为0.4 μg/(kg•h), 结果右美组患者相对于生理盐水对照组寒战发生率明显降低(10.0% *vs* 56.7%). 本研究为配合食管镜的检查操作, 因为麻醉深度为浅麻醉状态, 并且创伤小, 因操作和用药引起的寒战发生率低. 但右美降低寒战的作用无疑是对患者机体反应的一种保护, 是较理想的选择药品. 再者右美对术后患者的谵妄和烦躁也有比较好的消除作用, 这在本研究中, 躁动的发生率可以看出, 对照组的躁动率高于右美组, 这与Yapici等[16]对72例已行心脏手术在ICU机械通气期间出现谵妄、烦躁患者对比给予咪达唑仑和Dex, 发现右美组患者拔管时间更短, 更早脱离谵妄狂躁, 证实Dex有利于消除心脏手术患者术后出现的谵妄和烦躁的报道是一致的. 以上种种情况表明, 当Dex用于腔镜检查时, 可以大幅度降低不良反应的发生率.

总之, 食管镜检查七氟醚吸入麻醉复合Dex

■应用要点

可以减轻食管镜检查术的痛苦, 可以指导食管镜、纤维支气管镜及临床腔镜浅麻醉下的检查, 掌握用药剂量, 把握用药时机, 注意密切观察要点, 使患者更能配合侵入性操作. 同时可以提示各种患者比较抗拒的操作手术, 都可以采取更先进的药品和仪器来提高患者的耐受性和舒适度.

■同行评价
本文具有一定的学术价值.

1.0 μg/kg能加快七氟醚诱导过程, 减小吸入性麻醉气体的用量, 整个操作过程各种指标皆比较平稳, 无论一般生命体征还是各种检测项目, 相应的, 各种吸入性气体的带来的不适和不良反应也减少, 是一种比较理想的用于检测的麻醉药品.

4 参考文献

1 姜玉英. 食道异物取出术的麻醉选择. 国际医药卫生导报 2003; 9: 25-26
2 宋行华, 王彬. 食管镜在请教有机磷农药中毒中的应用. 山东大学基础医学院学报 2000; 14: 232
3 Kamibayashi T, Maze M. Clinical uses of alpha2 -adrenergic agonists. *Anesthesiology* 2000; 93: 1345-1349 [PMID: 11046225]
4 Ebert TJ, Hall JE, Barney JA, Uhrich TD, Colinco MD. The effects of increasing plasma concentrations of dexmedetomidine in humans. *Anesthesiology* 2000; 93: 382-394 [PMID: 10910487]
5 Unlugenc H, Gunduz M, Guler T, Yagmur O, Isik G. The effect of pre-anaesthetic administration of intravenous dexmedetomidine on postoperative pain in patients receiving patient-controlled morphine. *Eur J Anaesthesiol* 2005; 22: 386-391 [PMID: 15918389]
6 Cheam EWS, Chui PT. Randomised double-blind comparisom of fentanyl, mivacurium or placebo tofacitata laryngeal mask airway insertion. *Anaesthesia* 2000; 55: 323-326 [DOI: 10.1046/j.1365-2044.2000.01214.x]
7 Yuan SZ, Runold M, Hagberg H, Bona E, Lagercrantz H. Hypoxic-ischaemic brain damage in immature rats: effects of adrenoceptor modulation. *Eur J Paediatr Neurol* 2001; 5: 29-35 [PMID: 11277361]
8 Chu KS, Wang FY, Hsu HT, Lu IC, Wang HM, Tsai CJ. The effectiveness of dexmedetomidine infusion for sedating oral cancer patients undergoing awake fibreoptic nasal intubation. *Eur J Anaesthesiol* 2010; 27: 36-40 [PMID: 19550337 DOI: 10.1097/EJA.0b013e32832e0d2b]
9 许忠玲, 徐兴国, 崔松勤. 盐酸右美托咪定对食管癌根治术患者围术期血糖、β-内啡肽、TNF-α及IL-6表达的影响. 第二军医大学学报 2010; 31: 1330-1332
10 崔松勤. 盐酸右美托咪定对食管癌根治术患者围术期血糖、β-内啡肽、TNF-α及IL-6表达的影响. 第二军医大学学报 2010; 31: 1330-1332
11 吴新民, 许幸, 王俊科, 王鲲鹏, 薛张纲, 缪长虹, 邓小明, 艾登斌, 于浩. 静脉注射右美托咪定辅助全身麻醉的有效性和安全性. 中华麻醉学杂志 2007; 27: 773-776
12 刘馨烛, 陈斌. 右旋美托咪啶对全麻高血压患者拔管期的影响. 川北医学院学报 2010; 25: 413-415
13 Tobias JD. Dexmedetomidine and ketamine: an effective alternative for procedural sedation? *Pediatr Crit Care Med* 2012; 13: 423-427 [PMID: 22067985 DOI: 10.1097/PCC.0b013e318238b81c]
14 Bajwa SJ, Gupta S, Kaur J, Singh A, Parmar S. Reduction in the incidence of shivering with perioperative dexmedetomidine: A randomized prospective study. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol* 2012; 28: 86-91 [PMID: 22345953 DOI: 10.4103/0970-9185.92452]
15 Usta B, Gozdemir M, Demircioglu RI, Muslu B, Sert H, Yaldiz A. Dexmedetomidine for the prevention of shivering during spinal anesthesia. *Clinics* (Sao Paulo) 2011; 66: 1187-1191 [PMID: 21876972]
16 Yapici N, Coruh T, Kehlibar T, Yapici F, Tarhan A, Can Y, Ozler A, Aykac Z. Dexmedetomidine in cardiac surgery patients who fail extubation and present with a delirium state. *Heart Surg Forum* 2011; 14: E93-E98 [PMID: 21521683 DOI: 10.1532/HSF98.201011102]

编辑 田滢 电编 闫晋利

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费. 审稿周期及发表周期不变. (《世界华人消化杂志》编辑部)

世界华人消化杂志 2013年6月28日; 21(18): 1755-1759
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

共聚焦激光内镜在胃溃疡性病变诊断中的临床应用价值

雷天霞, 孙思予, 葛 楠, 王 晟, 吕庆杰

雷天霞, 厦门大学附属第一医院消化内科 福建省厦门市 361003
孙思予, 葛楠, 王晟, 中国医科大学附属盛京医院内镜中心 辽宁省沈阳市 110004
吕庆杰, 中国医科大学附属盛京医院病理科 辽宁省沈阳市 110004
雷天霞, 主治医师, 主要从事消化内科及内镜方面的研究.
作者贡献分布: 此课题由孙思予设计; 研究过程由雷天霞实施完成; 数据分析及病理支持由葛楠、王晟及吕庆杰完成; 本论文写作由雷天霞与孙思予共同完成.
通讯作者: 孙思予, 教授, 主任医师, 110004, 辽宁省沈阳市和平区三好街36号, 中国医科大学附属盛京医院内镜中心.
sunsy@sj-hospital.org
收稿日期: 2013-04-15 修回日期: 2013-05-15
接受日期: 2013-05-19 在线出版日期: 2013-06-28

Diagnostic value of confocal laser endoscopy in ulcerative diseases of the stomach

Tian-Xia Lei, Si-Yu Sun, Nan Ge, Sheng Wang, Qing-Jie Lv

Tian-Xia Lei, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Xiamen University, Xiamen 361003, Fujian Province, China
Si-Yu Sun, Nan Ge, Sheng Wang, Endoscopy Center, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China
Qing-Jie Lv, Department of Pathology, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China
Correspondence to: Si-Yu Sun, Professor, Chief Physician, Endoscopy Center, Shengjing Hospital of China Medical University, 36 Sanhao Street, Heping District, Shenyang 110004, Liaoning Province, China. sunsy@sj-hospital.org
Received: 2013-04-15 Revised: 2013-05-15
Accepted: 2013-05-19 Published online: 2013-06-28

Abstract

AIM: To assess the clinical value of confocal laser endoscopy (CLE) in diagnosing ulcerative diseases of the stomach.

METHODS: Forty-two patients with ulcerative lesions in the stomach suspected to be malignant by conventional endoscopy were enrolled in this study and underwent CLE. Fluorescein sodium (5.5 mL of 10% solution) was administered intravenously to enable fluorescent staining of the mucosa of the stomach. Images were acquired from the lesioned areas. Targeting biopsies were performed under the guide of CLE. The detection rate of malignant ulcers was compared between histopathologic diagnosis of postoperative specimens and biopsy targeting specimens.

RESULTS: CLE diagnosed malignant ulcers in 38 patients. Histopathology of biopsy targeting specimens and postoperative specimens detected malignant ulcers in 35 and 40 patients, respectively. The detection rate of malignant ulcers by CLE was 95%, and that by histopathology of biopsy targeting specimens was 87.5%. There was no significant difference in the detection rate of malignant ulcers between histopathology of biopsy targeting specimens and postoperative specimens ($P > 0.05$).

CONCLUSION: CLE enables real-time histopathologic imaging of gastric mucosa *in vivo* at the time of endoscopic examination. Compared with conventional endoscopy, biopsy targeting can improve the detection rate of diseases and decrease missed diagnosis. CLE has significant value in diagnosing ulcerative diseases of the stomach.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Confocal laser endoscopy; Ulcerative diseases of the stomach; Diagnosis

Lei TX, Sun SY, Ge N, Wang S, Lv QJ. Diagnostic value of confocal laser endoscopy in ulcerative diseases of the stomach. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(18): 1755-1759 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1755.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i18.1755

摘要

目的: 探讨共聚焦激光内镜检查(confocal laser endoscope, CLE)在胃溃疡性病变诊断中的临床应用价值.

方法: 选取普通内镜下怀疑为恶性胃溃疡性病变的42例患者进行CLE检查及CLE引导下活检. 静脉给予10%荧光素钠溶液对胃黏膜进行荧光染色. 于病变部位采集共聚焦图像, 并在相应的病变部位分别进行靶向活检, 将其组

■背景资料
普通内镜对于消化系黏膜病变的观察只局限于黏膜表面, 难以对溃疡性病变的良恶性作出精确诊断. 对病变的活组织检查及病理诊断仍为确诊胃恶性病变的金标准, 但是恶性溃疡性病变应用普通内镜进行活检有时会得到阴性结果,从而导致重复内镜检查和多次活检. 重复内镜检查会增加患者的痛苦, 取材次数的增加, 容易造成出血、穿孔等并发症, 而且, 常规组织病理学需要将组织标本切片、染色后进行光学显微镜下观察, 耗时较长, 可能延误恶性病变的临床诊断和治疗.

■同行评议者
陈其奎, 教授, 中山大学附属第二医院消化内科; 任建林, 教授, 厦门大学附属中山医院消化内科

织病理学结果与患者术后组织病理学结果比较进行统计学分析.

结果: CLE诊断38例为恶性溃疡性病变; CLE引导下靶向活检病理学结果为35例为恶性; 随访手术后组织病理学结果40例为恶性. CLE诊断胃溃疡性病变的检出率为95%; CLE靶向活检的检出率为87.50%, CLE靶向活检的组织病理学结果与手术后组织病理学结果之间差异无统计学意义(P>0.05).

结论: CLE可以实现在内镜检查的过程中体内胃黏膜组织的实时组织病理学成像, 并进行靶向活检. CLE与普通内镜相比有助于提高恶性病变检出率, 减少漏诊, 对胃溃疡性病变的良恶性鉴别具有重要的诊断价值.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 共聚焦激光内镜; 胃溃疡性病变; 诊断

核心提示: 本文选取普通内镜下怀疑为恶性胃溃疡性病变的42例患者进行共聚焦激光内镜检查(confocal laser endoscope, CLE)检查及CLE引导下活检探讨共聚焦激光内镜检查CLE在胃溃疡性病变诊断中的临床应用价值.

雷天霞, 孙思予, 葛楠, 王晟, 吕庆杰. 共聚焦激光内镜在胃溃疡性病变诊断中的临床应用价值. 世界华人消化杂志 2013; 21(18): 1755-1759 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1755.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i18.1755

■研发前沿
近几年出现了共聚焦激光显微镜(confocal laser microscope, LCM), 可以清楚的显示在体黏膜组织的显微结构, 将共聚焦激光内镜整合于传统电子内镜的远端头端诞生了共聚焦激光内镜(confocal laser endoscope, CLE), 其成像基本原理与LCM相似, 可以同时生成共聚焦图像和内镜图像. 共聚焦成像系统可以在内镜检查过程中, 对体内黏膜组织进行实时组织学成像, 对病变黏膜进行靶向活检, 有助于提高恶性病变的检出率, 减少临床漏诊, 同时节省时间, 减少了常规组织学检查繁琐的过程, 为体内组织学研究提供了快速、可靠的诊断工具.

0 引言

普通内镜对于消化系黏膜病变的观察只局限于黏膜表面, 难以对溃疡性病变的良恶性作出精确诊断. 对病变的活组织检查及病理诊断仍为确诊胃恶性病变的金标准, 但是恶性溃疡性病变应用普通内镜进行活检有时会得到阴性结果, 从而导致重复内镜检查和多次活检. 重复内镜检查会增加患者的痛苦, 取材次数的增加, 容易造成出血、穿孔等并发症, 而且, 常规组织病理学需要将组织标本切片、染色后进行光学显微镜下观察, 耗时较长, 可能延误恶性病变的临床诊断和治疗. 近几年出现了共聚焦激光显微镜(confocal laser microscope, LCM), 可以清楚的显示在体黏膜组织的显微结构, 将共聚焦激光内镜整合于传统电子内镜的远端头端诞生了共聚焦激光内镜(confocal laser endoscope, CLE), 其成像基本原理与LCM相似, 可以同时生成共聚焦图像和内镜图像[1,2]. 共聚焦成像系统可以在内镜检查过程中, 对体内黏膜组织进行实时组织学成像, 对病变黏膜进行靶向活检, 有助于提高恶性病变检出率, 减少临床漏诊, 同时节省时间, 减少了常规组织学检查繁琐的过程, 为体内组织学研究提供了快速、可靠的诊断工具. 已有研究结果表明, CLE检查可以准确地预测结肠新生物的性质, 其敏感度为97.4%, 特异度为99.4%, 准确率为99.2%[1]. 本研究对普通内镜下高度怀疑为恶性胃溃疡性病变的患者进行CLE检查和靶向活检, 初步探讨CLE检查在胃溃疡性病变诊断中的临床应用价值.

1 材料和方法

1.1 材料 选取普通内镜下高度怀疑为恶性胃溃疡性病变的42例患者进行CLE检查. 其中男36例, 女6例, 年龄48-72岁, 平均年龄58.7岁. 该42例患者临床症状分别表现为不同程度的上腹部疼痛、呕吐、呕血、黑便、近期消瘦等. 其中1例为胃癌术后3年的患者, 近期出现上腹隐痛、消瘦等症状. 所有病例均使用CLE为EC-3870FK(Pentax, Tokyo, Japan), 发射波长为488 nm的氩离子激光束扫描目标部位, 从组织表层到深层观察, 根据对比剂的分布对组织进行分析. CLE远端头端和插入镜管直径为12.8 mm, 远端头端包含一个水和气体喷嘴、两个光导束、一个辅助喷水孔道(用于局部应用对比剂)和一个2.8 mm的工作孔道. 成像平面的深度由手柄上的两个遥控按钮控制. 选用荧光素钠原液(fluorescein, 20%浓度3 mL/支)静脉注射后采集共聚焦图像. 所有病例均行荧光素钠试敏. 取20%荧光素钠原液0.25 mL加入生理盐水至5 mL, 配制成1%的荧光素钠皮试液. 将剩余的20%的荧光素钠2.75 mL加生理盐水至5.5 mL配制成10%的荧光素钠溶液准备内镜检查时静脉注射.

1.2 方法

1.2.1 检查操作: 术前准备如同常规内镜检查. 患者在检查当天禁食水, CLE检查前, 2%利多卡因胶浆15 mL口咽部局部麻醉, 同时行荧光素钠皮试. 将已配比好的1%荧光素钠溶液5 mL缓慢静脉注射, 15 min后观察结果. 患者如有血压、脉搏、呼吸和面色等全身改变为试敏阳性, 不能进行CLE检查. 如患者无过敏反应, 待内镜医师开始行CLE检查前30 s, 将10%的荧光素钠溶液5.5 mL静脉注射. 首先对普通视野下可见的溃疡性病变进行观察, 然后开启显示屏上激光发射按钮, 随之使共聚焦激光内镜头端轻柔地与目

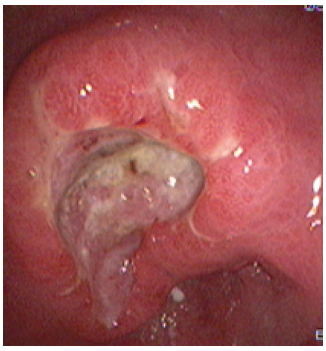


图 1 恶性胃溃疡性病变. 普通内镜视下可见病变表面覆污秽苔, 边缘黏膜不规则隆起.

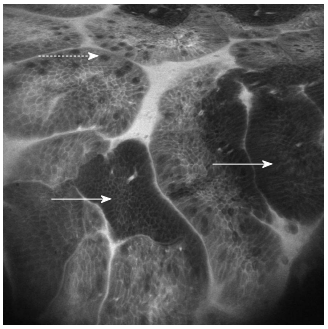


图 2 共聚焦图像. 相应共聚焦激光内镜图像显示正常胃小凹结构紊乱, 细胞着色差、排列密集、呈团状(实箭头), 周边散在较多杯状细胞(虚箭头).

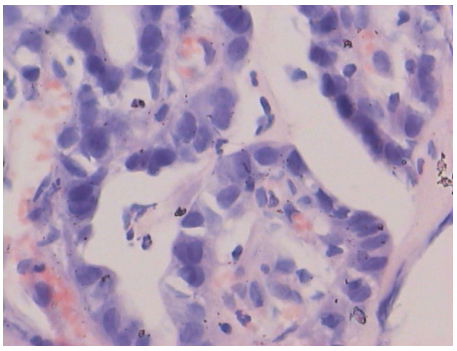


图 3 胃癌的组织病理学结果(HE染色 × 400). 相应组织病理学显示细胞大小、形状不一致, 核浆比例增大, 腺体不规则.

■应用要点

CLE可以实现在内镜检查的过程中体内胃黏膜组织的实时组织病理学成像, 并进行靶向活检. CLE与普通内镜相比有助于提高恶性病变检出率, 减少漏诊, 对胃溃疡性病变的良恶性鉴别具有重要的诊断价值.

标黏膜接触, 通过内镜手柄上的按钮调整选取检查部位扫描平面的深浅, 踩脚踏板以采集图像, 将共聚焦图像及普通内镜图像保存. 每例患者检查用时约20-30 min.

1.2.2 *靶向活检*: CLE检查过程中, 开启显示屏上激光发射按钮, 观察到CLE发射到病变黏膜表面的蓝色激光点, 使用内镜吸引孔道将该处病变黏膜轻轻吸起, 形成一个红色的点状区域, 随后在该处进行活组织取材(活检数目为2-6块). 最后组织病理学诊断由病理学医师通过HE染色后常规光学显微镜下观察得出结果. 所有行CLE检查的患者均无穿孔、出血等并发症发生. 所有患者在确诊后均接受了手术治疗.

1.2.3 *诊断标准*: 根据共聚焦激光图像中显示的胃小凹及腺体的形态、细胞的大小、形态及排列、腺体周围毛细血管袢的结构形态来判断胃溃疡性病变的良恶性.

正常胃黏膜共聚焦图像显示胃小凹开口形状多为圆形(胃体)、椭圆形(贲门周围)或裂缝样(胃窦); 腺体排列规整, 柱状上皮整齐排列在基底膜上, 不存在杯状上皮细胞; 胃小凹和腺体周围的毛细血管袢形态为蜂窝状或网织状.

恶性溃疡性病变黏膜的共聚焦图像表现为: 胃小凹失去正常形态, 腺体结构破坏, 排列不规整; 细胞大小不等、结构紊乱, 着色差、呈团块状、梭状聚集; 腺体周围的毛细血管袢结构不规则或消失, 间质内对比剂着色增强.

统计学处理 对CLE下靶向活检标本与手术后标本的组织病理学资料进行分析, 经χ^2检验, 计算*P*值. *P*<0.05时认为差异有统计学意义.

2 结果

本研究入组常规胃镜检查怀疑恶性溃疡性病变的42例患者, 其病变部位在内镜视野下大致表现为溃疡形态不规则, 底部凹凸不平, 表面白苔或污秽苔, 边缘黏膜隆起(图1).

经CLE检查诊断其中有38例为恶性溃疡性病变. 其共聚焦图像中(图2)观察到病变部位失去正常胃小凹的形态结构, 且小凹之间的间隙消失, 胃小凹开口失去圆形或裂缝样形态; 细胞大小不等, 着色差, 呈团块状聚集(粗箭头所示), 散在较多杯状细胞(细箭头所示); 腺体周围看不到正常蜂窝状的毛细血管袢结构. 而正常黏膜的共聚焦图像无此表现.

CLE下靶向活检标本的组织病理学结果35例为恶性; 随访手术后组织病理学结果40例为恶性, 包括31例腺癌和9例印戒细胞癌, 其余2例为重度慢性炎症伴中度不典型增生. 经过规律的制酸及保护胃黏膜治疗, 2 mo后随访此2例患者再次胃镜检查示溃疡病灶较前缩小, 活检检查仍确诊为慢性胃溃疡. 确诊为胃癌的组织病理学结果显示腺体形态不规则, 结构紊乱; 癌细胞的大小及形态不一致, 细胞体积变大, 核浆比例增大, 核深染(图3). 将CLE下靶向活检标本与手术后标本的组织病理学资料之间进行比较(表1).

本研究中, CLE诊断胃恶性溃疡性病变的检出率为95%(38/40); CLE靶向活检对恶性溃疡性病变的检出率为87.50%(35/40), CLE靶向活检的组织病理学结果与手术后组织病理学结果之间差异进行统计分析, 结果显示差异无统计学意义(*P*>0.05).

3 讨论

在临床上胃溃疡性病变常需要进行良恶性鉴别,

■同行评价
本研究探讨了共聚焦激光内镜检查在胃溃疡性病变诊断中的临床应用价值, 科学性较好, 文献阅读较充分.

表 1 靶向活检标本与手术后标本的组织病理学结果 (*n*)

	恶性	非恶性	合计
靶向活检标本组织病理学	35	7	42
手术后标本组织病理学	40	2	42
合计	75	9	84

其内镜下特点分别表现为: 良性溃疡多呈圆形或椭圆形, <2 cm, 底平坦, 表面覆着黄白苔, 边缘整齐光滑; 恶性溃疡多呈不规则形, >2 cm, 底凹凸不平, 苔污秽, 边缘黏膜呈“堤坝样”隆起, 向溃疡聚集的皱襞有融合中断现象. 对于普通内镜下怀疑恶性溃疡的病变进行活检常得到阴性结果, 需要在短期内重复内镜检查并多次、多点取材, 导致出血、穿孔等并发症的发生率增高, 而且常规组织病理学检查过程耗时较长, 更有甚者根据一次阴性活检结果给予患者抑制胃酸药物治疗, 可能会延误病情.

CLE检查是一项新的内镜检查技术, 他的特点就是在内镜检查的过程中对体内胃黏膜组织进行实时组织学成像, 为体内组织学研究提供了快速可靠的诊断工具. 他平行于正常胃黏膜组织进行扫查, 通过荧光素钠对比剂的使用清楚地显示胃小凹、胃腺体、柱状上皮细胞及环绕胃小凹和腺体的蜂窝状的毛细血管袢, 与正常胃黏膜的组织病理学相一致[3,4]. 有研究表明, 对新鲜未处理的正常胃肠黏膜和癌性胃肠黏膜标本行CLE检查, 结果显示CLE检出癌变的敏感性为85.7%, 特异性为92.0%, 总的诊断精确度为89.7%[5].

本研究中, CLE诊断胃恶性溃疡性病变的检出率为95%, CLE靶向活检的检出率为87.50%, CLE靶向活检的组织病理学结果与手术后组织病理学结果之间差异无统计学意义(P>0.05), 结果显示在该内镜下靶向活检与普通内镜相比有助于提高恶性病变检出率, 减少漏诊, 并且一定程度上减少活检次数和标本数目, 从而减少活检相关的出血、穿孔等并发症的发生. 这表明该内镜技术在胃溃疡性病变诊断中有重要的临床应用价值, 为恶性病变的临床及时诊断和早期治疗带来新的方法.

值得注意的是, 共聚焦成像中图像伪像常干扰内镜诊断, 一般常见因素包括共聚焦成像窗与病变不平黏膜的不良接触、胃腔内黏液中的杂质造成图像出现黑色斑点、胃的蠕动及患者的呼吸运动等. 有报道显示, 所获得的上消化道共聚焦图像中, 由蠕动和呼吸运动造成的运动伪像占38%[6]. 但是这些伪像一般比较容易辨别. 在接触病变部位之前用生理盐水冲洗该部位, 或者断开后重新直接接触病变部位并保持稳定、仔细操作内镜等均可减少图像伪像的干扰.

由于该内镜技术尚处于初步研究阶段, 本次研究的病例数较少, 目前使用的荧光剂、氩激光束的穿透力、CLE的分辨率等许多不足之处, 故该内镜的诊断准确性还需要进一步研究证实. 目前已有研究表明使用CLE可以在活体内检测到幽门螺杆菌[7]、确诊Barrett食管[8]及相关新生物[9]、监测溃疡性结肠炎[10,11]、诊断胶原性结肠炎[12,13]及诊断结肠上皮内瘤变[14]和结直肠癌[15]. 相信随着光学纤维镜及激光扫描等技术的进步, 以及对其他对比剂的进一步应用, CLE可以逐渐完善, 实时地从分子及细胞水平诊断消化系疾病.

4 参考文献

1 Kiesslich R, Burg J, Vieth M, Gnaendiger J, Enders M, Delaney P, Polglase A, McLaren W, Janell D, Thomas S, Nafe B, Galle PR, Neurath MF. Confocal laser endoscopy for diagnosing intraepithelial neoplasias and colorectal cancer in vivo. *Gastroenterology* 2004; 127: 706-713 [PMID: 15362025 DOI: 10.1053/j.gastro.2004.06.050]

2 Goetz M, Hoffman A, Galle PR, Neurath MF, Kiesslich R. Confocal laser endoscopy: new approach to the early diagnosis of tumors of the esophagus and stomach. *Future Oncol* 2006; 2: 469-476 [PMID: 16922614 DOI: 10.2217/14796694.2.4.469]

3 De Palma GD. Confocal laser endomicroscopy in the "in vivo" histological diagnosis of the gastrointestinal tract. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 5770-5775 [PMID: 19998496 DOI: 10.3748/wjg.15.5770]

4 Polglase AL, McLaren WJ, Skinner SA, Kiesslich R, Neurath MF, Delaney PM. A fluorescence confocal endomicroscope for in vivo microscopy of the upper- and the lower-GI tract. *Gastrointest Endosc* 2005; 62: 686-695 [PMID: 16246680 DOI: 10.1016/j.gie.2005.05.021]

5 Hsiung PL, Hardy J, Friedland S, Soetikno R, Du CB, Wu AP, Sahbaie P, Crawford JM, Lowe AW, Contag CH, Wang TD. Detection of colonic dysplasia in vivo using a targeted heptapeptide and confocal microendoscopy. *Nat Med* 2008; 14: 454-458 [PMID: 18345013 DOI: 10.1038/nm1692]

6 Venkatesh K, Cohen M, Abou-Taleb A, Thomas S, Taylor C, Thomson M. A new method in the diagnosis of reflux esophagitis: confocal laser endomicroscopy. *Gastrointest Endosc* 2012; 75: 864-869 [PMID: 22226384 DOI: 10.1016/j.gie.2011.11.013]

7 Ji R, Li YQ, Gu XM, Yu T, Zuo XL, Zhou CJ. Confocal laser endomicroscopy for diagnosis of Helicobacter pylori infection: a prospective study. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 700-705 [PMID: 20492325 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2009.06197.x]

8 Dunbar KB, Okolo P, Montgomery E, Canto MI. Confocal laser endomicroscopy in Barrett's esopha-

gus and endoscopically inapparent Barrett's neoplasia: a prospective, randomized, double-blind, controlled, crossover trial. *Gastrointest Endosc* 2009; 70: 645-654 [PMID: 19559419 DOI: 10.1016/j.gie.2009.02.009]
9 Nguyen VX, Nguyen CC, De Petris G, Sharma VK, Das A. Confocal endomicroscopy (CEM) improves efficiency of Barrett surveillance. *J Intero Gastroenterol* 2012; 2: 61-65 [PMID: 23687587 DOI: 10.4161/jig.22175]
10 Gheorghe C, Cotruta B, Iacob R, Becheanu G, Dumbrava M, Gheorghe L. Endomicroscopy for assessing mucosal healing in patients with ulcerative colitis. *J Gastrointestin Liver Dis* 2011; 20: 423-426 [PMID: 22187709]
11 Hlavaty T, Huorka M, Koller T, Zita P, Kresanova E, Rychly B, Toth J. Colorectal cancer screening in patients with ulcerative and Crohn's colitis with use of colonoscopy, chromoendoscopy and confocal endomicroscopy. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2011; 23: 680-689 [PMID: 21602687 DOI: 10.1097/MEG.0b013e32834791b4]
12 Kiesslich R, Hoffman A, Goetz M, Biesterfeld S, Vieth M, Galle PR, Neurath MF. In vivo diagnosis of collagenous colitis by confocal endomicroscopy. *Gut* 2006; 55: 591-592 [PMID: 16531549 DOI: 10.1136/gut.2005.084970]
13 Zambelli A, Villanacci V, Buscarini E, Bassotti G, Albarello L. Collagenous colitis: a case series with confocal laser microscopy and histology correlation. *Endoscopy* 2008; 40: 606-608 [PMID: 18609454 DOI: 10.1055/s-2008-1077376]
14 Li Z, Yu T, Zuo XL, Gu XM, Zhou CJ, Ji R, Li CQ, Wang P, Zhang TG, Ho KY, Li YQ. Confocal laser endomicroscopy for in vivo diagnosis of gastric intraepithelial neoplasia: a feasibility study. *Gastrointest Endosc* 2010; 72: 1146-1153 [PMID: 21111868 DOI: 10.1016/j.gie.2010.08.031]
15 Liu C, Li CQ, Zuo XL, Ji R, Xie XJ, Yang YS, Li YQ. Confocal laser endomicroscopy for the diagnosis of colorectal cancer in vivo. *J Dig Dis* 2013; 14: 259-265 [PMID: 23336610 DOI: 10.1111/1751-2980.12039]

编辑 田滢 电编 闫晋利

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

• 消息 •

中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873

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

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

世界华人消化杂志 2013年6月28日; 21(18): 1760-1765
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

胃癌患者*TYMS*、*ERCC1*基因型在外周血和肿瘤组织中的多态性

王珊珊, 沈 燕, 李慧莲, 卫 肖

■背景资料
胃癌(gastric cancer, GC)是全世界最常见的恶性消化系肿瘤之一, 化疗在GC治疗中占有重要地位. 多项研究表明胸苷酸合成酶基因(thymidylate-synthase, *TYMS*)和切除修复交叉互补基因1(excision repair cross-complementing 1, *ERCC1*)与5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil)和铂类药物敏感性密切相关. 目前, 临床上对于化疗药物敏感基因的检测多采用肿瘤组织标本, 但由于患者病程存在个体差异, 可能有不适合进行手术切除等原因, 导致肿瘤组织难以获得. 因此, 需寻求一种快速简便的检测方法.

王珊珊, 沈燕, 卫肖, 郑州大学第一附属医院 河南省郑州市 450052
李慧莲, 河南省军区门诊部 河南省郑州市 450000
王珊珊, 硕士, 主要从事分子生物学的相关研究.
作者贡献分布: 王珊珊与沈燕对此文为主要贡献; 李慧莲与卫肖辅助此文完成; 此课题由王珊珊与沈燕设计; 研究过程由王珊珊与沈燕操作完成; 研究所用标本由王珊珊与李慧莲收集提供; 所用试剂及分析工具由卫肖联系提供; 数据分析由王珊珊完成; 本论文写作由王珊珊与沈燕完成.
通讯作者: 沈燕, 教授, 450052, 河南省郑州市建设东路1号, 郑州大学第一附属医院检验科. wangshan_www@163.com
收稿日期: 2013-04-12 修回日期: 2013-04-23
接受日期: 2013-05-12 在线出版日期: 2013-06-28

Comparison of *TYMS* and *ERCC1* genotypes between peripheral venous blood and tumor tissues of patients with gastric cancer

Shan-Shan Wang, Yan Shen, Hui-Lian Li, Xiao Wei

Shan-Shan Wang, Yan Shen, Xiao Wei, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henna Province, China
Hui-Lian Li, Outpatient Department of Henan Military Region, Zhengzhou 450000, Henan Province, China
Correspondence to: Yan Shen, Professor, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 1 Jianshe East Road, Zhengzhou 450052, Henna Province, China. wangshan_www@163.com
Received: 2013-04-12 Revised: 2013-04-23
Accepted: 2013-05-12 Published online: 2013-06-28

Abstract

AIM: To compare the genotypes of thymidylate-synthase (*TYMS*) and excision repair cross-complementing 1 (*ERCC1*) between peripheral venous blood and tumor tissues of patients with gastric cancer (GC).

METHODS: Peripheral venous blood and tumor tissue samples of 43 GC patients were collected. The genotypes of *TYMS* and *ERCC1* in these samples were detected by PCR and polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP).

RESULTS: There was no significant correlation between TYMS and ERCC1 genotypes and clinicopathologic parameters in GC patients (all $P > 0.05$). In both peripheral blood and tumor tissue samples, the detection rate of 3R/3R genotype and that of 2R/2R or 2R/3R genotype of TYMS were 76.7% and 23.3%, respectively; and the detection rate of C/C genotype and that of T/T or C/T genotype of *ERCC1* were 81.3% and 18.7%, respectively. The detection rates of *TYMS* and *ERCC1* genotypes in peripheral blood were consistent with those in tumor tissue samples ($P < 0.01$).

CONCLUSION: Peripheral venous blood samples can be used as an alternative to tumor tissue samples to detect gene polymorphisms.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; Polymerase chain reaction; Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism; Gene polymorphism; Thymidylatesynthase; Excision repair cross-complementing 1

Wang SS, Shen Y, Li HL, Wei X. Comparison of *TYMS* and *ERCC1* genotypes between peripheral venous blood and tumor tissues of patients with gastric cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(18): 1760-1765 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1760.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i18.1760

摘要

目的: 检测胃癌(gastric cancer, GC)患者外周血和肿瘤组织中胸苷酸合成酶基因(thymidylatesynthase, *TYMS*)和切除修复交叉互补基因1(excision repair cross-complementing 1, *ERCC1*)的多态性, 比较各基因型在外周血和肿瘤组织中是否一致.

方法: 收集43例GC患者术前抗凝外周血及肿瘤组织, 将其分为外周血组与肿瘤组织组. 应用PCR法和限制性片段长度多态性聚合酶链式反应(polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP)法分别检测外周血与肿瘤组织中*TYMS*和

■同行评议者
王刚, 副研究员, 哈尔滨医科大学附属第一医院胰胆外科(普外二科)

*ERCC1*基因的基因型.

结果: *TYMS*和*ERCC1*基因各基因型与GC患者临床病理因素无显著相关(P>0.05). 外周血与肿瘤组织中*TYMS*基因3R/3R、(2R/2R、2R/3R)基因型检出率76.7%、23.3%, ERCC1基因C/C、(T/T、C/T)基因型检出率为81.3%、18.7%, 差别有统计学意义(P<0.01).

结论: GC患者外周血和肿瘤组织中*TYMS*与*ERCC1*基因各基因型检出率一致, 提示外周血标本可代替肿瘤组织标本对*TYMS*与*ERCC1*基因多态性进行检测.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 胃癌; 聚合酶链式反应; 限制性片段长度多态性聚合酶链式反应; 基因多态性; 胸苷酸合成酶基因; 切除修复交叉互补基因1

核心提示: 胃癌(gastric cancer)患者外周血和肿瘤组织中*TYMS*与*ERCC1*基因各基因型检出率一致, 提示外周血标本可代替肿瘤组织标本对*TYMS*与*ERCC1*基因多态性进行检测.

王珊珊, 沈燕, 李慧莲, 卫肖. 胃癌患者*TYMS*、*ERCC1*基因型在外周血和肿瘤组织中的多态性. 世界华人消化杂志 2013; 21(18): 1760-1765 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1760.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i18.1760

0 引言

胃癌(gastric cancer, GC)是全世界最常见的恶性消化系肿瘤之一, 我国发病率约占全球新发患者的42%. 早期GC以手术为主, 辅以化疗, 晚期则以化疗为主要手段, 因此化疗在GC治疗中占有重要地位. 但随着肿瘤对化疗药物耐药性的出现, 寻找能够衡量肿瘤对化疗药物敏感度的标志物和如何逆转肿瘤耐药逐渐成为研究的热点. 其中胸苷酸合成酶基因(thymidylatesynthase, *TYMS*)和切除修复交叉互补基因1(excision repair cross-complementing 1, *ERCC1*)最早引起人们关注[1-3], 且多项研究表明*TYMS*和*ERCC1*与5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-Fu)和铂类药物敏感性密切相关[4-8]. 目前, 临床上对于化疗药物敏感基因的检测多采用肿瘤组织标本, 但由于患者病程存在个体差异, 可能有不适合进行手术切除等原因, 导致肿瘤组织难以获得. 因此, 寻求一种快速简便的检测方法迫在眉睫. 本研究通过检测并比较GC患者外周血及肿瘤组织中*TYMS*及*ERCC1*多态性是否一致, 来探讨外周血检测替代肿瘤组织检测的可行性.

■研发前沿
寻找能够衡量肿瘤对化疗药物敏感度的标志物和如何逆转肿瘤耐药逐渐成为目前研究的热点. 因此, 寻求一种快速简便的检测方法迫在眉睫.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2012-02/2012-08在河南郑州大学第一附属医院胃肠外科行GC切除术的患者43例, 收集患者术前抗凝全血2 mL和相应肿瘤组织标本. 肿瘤组织经病理学检查证实均为胃腺癌. 所有患者手术前均未行放疗和化疗.

1.2 方法

1.2.1 外周血和肿瘤组织DNA的提取: GC患者外周血使用血液基因组柱式小量提取试剂盒(北京康为世纪生物科技有限公司)抽提基因组DNA, 肿瘤组织使用UNQ-10柱式动物组织DNA抽提试剂盒(上海生工生物工程股份有限公司)抽提基因组DNA, 并均严格按照说明书进行操作, 测定DNA纯度合格.

1.2.2 检测*TYMS*和*ERCC1*基因多态性: (1)TYMS多态性检测: 以提取的外周血和癌组织DNA为模板, 引物序列根据GenBank中人*TYMS*(gi:3842290047)基因序列选定. 上游引物序列为5'-GCGGAAGGGGTCCTGCCA-3', 下游引物序列为5'-CGTGCGGTCGTCCTTCCTG-3', 反应条件为: 第1步, 95 ℃预变性5 min; 第2步, 95 ℃ 30s、63 ℃ 30 s、72 ℃ 30 s, 共40个循环; 最后72 ℃延伸5 min. 取PCR扩增产物行3%琼脂糖凝胶电泳, 用凝胶成像仪观察结果并照相; (2)ERCC1多态性检测: 以提取的总DNA为模板, 引物序列根据GenBank中人*ERCC1*(gi:42544170)基因序列选定, 上游引物为5'-TGTGGTTATCAAGGGTCATCC-3', 下游引物为5'-CAGTCCAGAACACTGGGACAT-3',反应条件为: 第1步95 ℃预变性5 min; 第2步, 95 ℃ 30 s、58 ℃ 30 s、72 ℃ 30 s, 共40个循环; 最后72 ℃延伸5 min. 取扩增产物行1.2%琼脂糖凝胶电泳, 用凝胶成像仪观察结果并照相. 另取10 μL PCR扩增产物用HindⅢ酶进行消化, 取消化后的产物行2%琼脂糖凝胶电泳, 用凝胶成像仪观察结果并照相.

统计学处理 应用SPSS17.0软件进行统计分析, 所得资料均用样本例数表示, Spearman法进行样本组间相关性分析, 两组间的比较用χ^2连续校正法检验, 双侧检验. 以P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 *TYMS*和*ERCC1*基因型与GC患者临床病理

■相关报道
Ayako等提出TYMS拷贝数可作为氟尿嘧啶药物敏感性的预测指标; Yin等在对以奥沙利铂化疗为主的GC和大肠癌的研究中指出, *ERCC1* C118T可作为以奥沙利铂为主的治疗的预测因子.

表 1 *TYMS*和*ERCC1*基因型与GC患者临床病理因素的相关性 (*n* = 43)

临床病理因素	患者人数					
	TYMS		*P*值	*ERCC1*		*P*值
	3R/3R	2R/2R、2R/3R		C/C	T/T、C/T	
性别						0.293
男	22	9	0.651	25	6	
女	9	3		11	1	
肿瘤部位						0.885
胃底	3	1		4	0	
胃体	16	7	0.778	18	5	
胃窦	11	4		13	2	
其他	1	0		1	0	
肿瘤分化程度						0.466
高、中分化	9	2	0.417	10	1	
低分化	22	10		26	6	
转移部位数目						0.717
0	7	2		8	1	
1	16	9	0.489	20	5	
2	6	1		7	0	
≥3	2	0		1	1	
CEA水平						0.127
≥10	19	9	0.41	25	4	
<10	12	3		12	3	

TYMS: 胸苷酸合成酶基因; *ERCC1*: 切除修复交叉互补基因1; GC: 胃癌; CEA: 术前癌胚抗原.

表 2 外周血和肿瘤组织*TYMS*基因各基因型频率

肿瘤组织*TYMS*基因	外周血*TYMS*基因		合计	χ^2值	*P*值
	3R/3R	2R/2R、2R/3R			
3R/3R	31	0	31		
2R/2R、2R/3R	0	12	12		
合计	31	12	43	38.175	<0.01

TYMS: 胸苷酸合成酶基因.

因素相关性分析 43例GC术后患者中, *TYMS*和*ERCC1*基因多态性位点基因型与其性别、肿瘤部位、肿瘤分化程度、转移部位个数以及术前癌胚抗原水平方面均无显著相关性(*P*>0.05, 表1).

2.2 *TYMS*基因各基因型检测与分析 由电泳结果可知(图1), *TYMS*基因3R/3R基因型扩增片段为296 bp、2R/2R基因型扩增片段为268 bp, 2R/3R基因型同时存在268 bp与296 bp两种长度片段, 其扩增结果与预期结果相一致. *TYMS*基因各基因型在外周血和肿瘤组织中的分布见表2. 结果显示, 外周血与肿瘤组织中*TYMS*基因3R/3R基因型检出率为76.7%, (2R/2R、2R/3R)基因型检出率为23.3%. 经统计分析发现, 外周血和肿瘤组织中*TYMS*基因各基因型检出率一致, 且差别有计学意义(*P*<0.01).

2.3 *ERCC1*基因各基因型检测与分析 由电泳结果可知(图2), *ERCC1*基因扩增片段为240 bp, 经酶切之后, C/C基因型不被酶所切, 片段长度仍为240 bp, T/T基因型可被酶切为87 bp和153 bp, C/T基因型, 一部分不被酶切, 一部分被酶切为87 bp和153 bp两个片段, 其结果显示与预期结果相一致. *ERCC1*基因各基因型在外周血和肿瘤组织中的分布(表3). 结果显示, 外周血与肿瘤组织中*ERCC1*基因C/C基因型检出率为81.3%(T/T、C/T)基因型检出率为18.7%. 统计分析发现, 外周血和肿瘤组织中*ERCC1*基因各基因型检出

表 3 外周血和肿瘤组织*ERCC1*基因各基因型频率

肿瘤组织*ERCC1*基因	外周血*ERCC1*基因		合计	χ^2值	*P*值
	C/C	T/T、C/T			
C/C	35	0	35		
T/T、C/T	0	8	8		
合计	35	8	43	38.750	<0.01

ERCC1: 切除修复交叉互补基因1.

■创新盘点
通过检测并比较GC患者外周血及肿瘤组织中TYMS及ERCC1多态性是否一致, 来探讨外周血检测替代肿瘤组织检测的可行性.

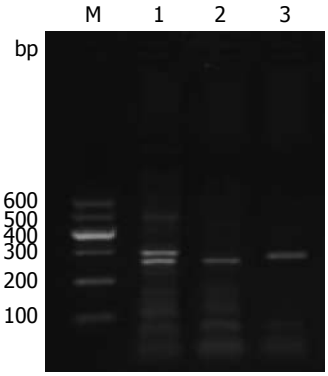


图 1 *TYMS*基因各基因型电泳图. M: marker; 1: 2R/3R基因型; 2: 2R/2R基因型; 3: 3R/3R基因型.

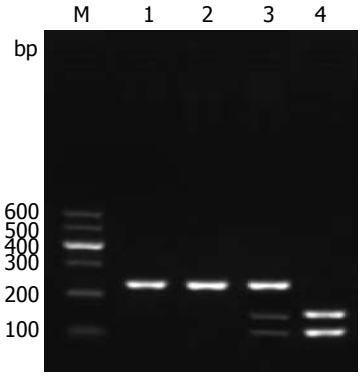


图 2 *ERCC1*基因各基因型电泳图. M: marker; 1: *ERCC1*基因PCR产物; 2: C/C基因型; 3: C/T基因型; 4: T/T基因型.

率一致, 且差别有统计学意义(*P*<0.01).

3 讨论

5-Fu和铂类药物是目前用于GC化疗的基本药物. 5-Fu在体内的代谢产物可与DNA合成所需的酶类形成稳定共价络合物, 从而干扰DNA的合成; 铂类药物主要通过形成链内/链间DNA加合物而引起DNA复制障碍, 抑制细胞复制, 在临床上奥沙利铂联合5-Fu和醛氢叶酸(FOLFOX)作为一线化疗方案已广泛用于进展期GC的治疗, 总有效率在50%左右[6].

目前报道与5-Fu敏感性密切相关的基因包括*TYMS*和*MTHFR*, 与铂类药物敏感性密切相关的基因有*ERCC1*、*XRCC1*和*GSTP1*[9-13]. 其中*TYMS*表达产物是叶酸循环中起中心作用的酶类之一, 可将脱氧尿苷酸转变成脱氧胸苷酸, 后者是DNA合成和修复所需胸苷酸唯一来源, 但*TYMS*在5'非翻译区存在的28 bp核苷酸片段重复多态可影响mRNA稳定性, 进而影响表达, 从而改变个体对化疗药物的敏感性. 早在2005年时, Yawata等[14]就提出TYMS拷贝数可作为氟尿嘧啶药物敏感性的预测指标. 而后Brody等[15]Watson等[16]证实*TYMS*基因的5'端28 bp核苷酸片段重复多态可影响5-Fu在肿瘤患者体内的反应, Huang等[17]通过对116例以5-Fu为基础化疗的GC患者的研究, 也得出了相似的结论, 而*ERCC1*是核苷酸切除修复系统中的关键基因, 与铂类药物抵抗明显相关. 众多研究认为, ERCC1最常见且有意义的C118T多态可降低细胞中ERCC1的转录效率及蛋白表达水平, 从而减弱ERCC1的DNA修复能力, 并进一步影响个体对铂类化疗药物的反应[10,18,19]. 2011年时, Yin等[20]在对以奥沙利铂化疗为主的GC和大肠癌的研究中指出, *ERCC1* C118T可作为以奥沙利铂为主的治疗的预测因子.

本研究结果显示, 胃腺癌患者外周血中*TYMS*和*ERCC1*的基因型与相应的肿瘤组织中的基因型相一致, 说明外周血中*TYMS*和*ERCC1*的基因型可在一定程度上反映其在肿瘤组织中的基因型, 这可能是由于外周血中所含的有核细胞和肿瘤组织细胞均来自同一个体, 其遗传特征相同, 但也不能排除外周血中混有肿瘤细胞的可能. 本次研究发现, 外周血*TYMS*基因中3R/3R基因型频率为76.7%, 稍高于2002年Luo等[21]对中国人群*TYMS*基因多态性研究的结果(3R/3R, 66.06%). 同时*ERCC1*基因C/C基因型频率为81.3%, 也高于刘永萍等[22]对126例GC患者*ERCC1*基因型的研究结果(64.29%), 这可能是由于本次研究样本例数较少, 导致取得的样本有所偏倚, 或者是由地域的差别所致.

由于进行GC筛查时, 部分患者取得肿瘤组织标本比较困难. 对于已行放、化疗治疗的患者, 肿瘤组织缩小、变性, 甚至消失, 而对于已行手术治疗的患者, 肿瘤组织早已被切除, 更难

■应用要点
外周血标本代替肿瘤组织标本检测*TYMS*与*ERCC1*基因多态性可为患者早期制定个性化的联合化疗方案, 提高患者生存率和生活质量.

再次取得肿瘤组织标本进行检测. 另外外科医生在手术过程中对于标本的留取有一定的偏差, 有取不到含有肿瘤细胞的可能性, 其次肿瘤组织在提取核酸过程中有诸多不利影响因素, 如组织块的大小不易掌握, 以及组织粉碎、细胞的裂解过程, 若粉碎或裂解不充分, 则会残留组织块, 提取的核酸纯度会受到影响, 而且所需时间比较长. 但抽取患者外周血进行检测则方便、快捷, 能够对大量被检测者多次取得标本进行检测, 创伤及危险性均较小, 患者比较容易接受, 且外周血提取核酸很方便, 所需时间较少, 能快速得到结果, 为患者的治疗争取时间. 因此用外周血标本代替肿瘤组织标本检测*TYMS*与*ERCC1*基因多态性可为患者早期制定个性化的联合化疗方案, 提高患者生存率和生活质量.

4 参考文献

1 Ishida Y, Kawakami K, Tanaka Y, Kanehira E, Omura K, Watanabe G. Association of thymidylate synthase gene polymorphism with its mRNA and protein expression and with prognosis in gastric cancer. *Anticancer Res* 2002; 22: 2805-2809 [PMID: 12530000]
2 Ryu JS, Hong YC, Han HS, Lee JE, Kim S, Park YM, Kim YC, Hwang TS. Association between polymorphisms of ERCC1 and XPD and survival in non-small-cell lung cancer patients treated with cisplatin combination chemotherapy. *Lung Cancer* 2004; 44: 311-316 [PMID: 15140544]
3 Cho HJ, Park YS, Kang WK, Kim JW, Lee SY. Thymidylate synthase (TYMS) and dihydropyrimidine dehydrogenase (DPYD) polymorphisms in the Korean population for prediction of 5-fluorouracil-associated toxicity. *Ther Drug Monit* 2007; 29: 190-196 [PMID: 17417073]
4 Sugata Y, Harada Y. Electrophysiological study on a cochlear outer hair cell. *Auris Nasus Larynx* 1991; 18: 107-114 [PMID: 1741703]
5 Viguier J, Boige V, Miquel C, Pocard M, Giraudeau B, Sabourin JC, Ducreux M, Sarasin A, Praz F. ERCC1 codon 118 polymorphism is a predictive factor for the tumor response to oxaliplatin/5-fluorouracil combination chemotherapy in patients with advanced colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 6212-6217 [PMID: 16144923]
6 龚继芳, 沈琳. 奥沙利铂对照顺铂治疗进展期胃癌的荟萃分析. 中华医学杂志 2009; 89: 3261-3268
7 Lee S, Park YH, Kim KH, Cho EY, Ahn YC, Kim K, Shim YM, Ahn JS, Park K, Im YH. Thymidine synthase, thymidine phosphorylase, and excision repair cross-complementation group 1 expression as predictive markers of capecitabine plus cisplatin chemotherapy as first-line treatment for patients with advanced oesophageal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* 2010; 103: 845-851 [PMID: 20700125 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605831]
8 Chai H, Pan J, Zhang X, Zhang X, Shen X, Li H, Zhang K, Yang C, Sheng H, Gao H. ERCC1 C118T associates with response to FOLFOX4 chemotherapy in colorectal cancer patients in Han Chinese. *Int J Clin Exp Med* 2012; 5: 186-194 [PMID: 22567180]
9 Su D, Ma S, Liu P, Jiang Z, Lv W, Zhang Y, Deng Q, Smith S, Yu H. Genetic polymorphisms and treatment response in advanced non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2007; 56: 281-288 [PMID: 17222938]
10 Liang J, Jiang T, Yao RY, Liu ZM, Lv HY, Qi WW. The combination of ERCC1 and XRCC1 gene polymorphisms better predicts clinical outcome to oxaliplatin-based chemotherapy in metastatic colorectal cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 2010; 66: 493-500 [PMID: 19960344 DOI: 10.1007/s00280-009-1186-3]
11 Chen YC, Tzeng CH, Chen PM, Lin JK, Lin TC, Chen WS, Jiang JK, Wang HS, Wang WS. Influence of GSTP1 I105V polymorphism on cumulative neuropathy and outcome of FOLFOX-4 treatment in Asian patients with colorectal carcinoma. *Cancer Sci* 2010; 101: 530-535 [PMID: 19922504 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2009.01418x]
12 Ghosh S, Hossain MZ, Borges M, Goggins MG, Ingersoll RG, Eshleman JR, Klein AP, Kern SE. Analysis of polymorphisms and haplotype structure of the human thymidylate synthase genetic region: a tool for pharmacogenetic studies. *PLoS One* 2012; 7: e34426 [PMID: 22496803 DOI: 10.1371/journal]
13 Jakobsen A, Nielsen JN, Gyldenkerne N, Lindeberg J. Thymidylate synthase and methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism in normal tissue as predictors of fluorouracil sensitivity. *J Clin Oncol* 2005; 23: 1365-1369 [PMID: 15735113]
14 Yawata A, Kim SR, Miyajima A, Kubo T, Ishida S, Saito Y, Nakajima Y, Katori N, Matsumoto Y, Fukuoka M, Ohno Y, Ozawa S, Sawada J. Polymorphic tandem repeat sequences of the thymidylate synthase gene correlates with cellular-based sensitivity to fluoropyrimidine antitumor agents. *Cancer Chemother Pharmacol* 2005; 56: 465-472 [PMID: 15918040]
15 Brody JR, Hucl T, Gallmeier E, Winter JM, Kern SE, Murphy KM. Genomic copy number changes affecting the thymidylate synthase (TYMS) gene in cancer: a model for patient classification to aid fluoropyrimidine therapy. *Cancer Res* 2006; 66: 9369-9373 [PMID: 17018589]
16 Watson RG, Muhale F, Thorne LB, Yu J, O'Neil BH, Hoskins JM, Meyers MO, Deal AM, Ibrahim JG, Hudson ML, Walko CM, McLeod HL, Auman JT. Amplification of thymidylate synthetase in metastatic colorectal cancer patients pretreated with 5-fluorouracil-based chemotherapy. *Eur J Cancer* 2010; 46: 3358-3364 [PMID: 20727737 DOI: 10.1016/j.ejca.2010.07.011]
17 Huang ZH, Hua D, Li LH. The polymorphisms of TS and MTHFR predict survival of gastric cancer patients treated with fluorouracil-based adjuvant chemotherapy in Chinese population. *Cancer Chemother Pharmacol* 2009; 63: 911-918 [PMID: 18704422 DOI: 10.1007/s00280-008-0815-6]
18 Smith S, Su D, Rigault de la Longrais IA, Schwartz P, Puopolo M, Rutherford TJ, Mor G, Yu H, Katsaros D. ERCC1 genotype and phenotype in epithelial ovarian cancer identify patients likely to benefit from paclitaxel treatment in addition to platinum-based therapy. *J Clin Oncol* 2007; 25: 5172-5179 [PMID: 18024864]
19 Liang J, Li QF, Yao RY, Lü HY, Jiang J, Sun YY, Song SA, Jiang T. [Association between genetic polymorphisms of ERCC1, XRCC1, GSTP1 and

survival of advanced gastric cancer patients treated with oxaliplatin/5-Fu-based chemotherapy]. *Zhonghua Zhongliu Zazhi* 2010; 32: 515-519 [PMID: 21029695]
20 Yin M, Yan J, Martinez-Balibrea E, Graziano F, Lenz HJ, Kim HJ, Robert J, Im SA, Wang WS, Etienne-Grimaldi MC, Wei Q. ERCC1 and ERCC2 polymorphisms predict clinical outcomes of oxaliplatin-based chemotherapies in gastric and colorectal cancer: a systemic review and meta-analysis. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 1632-1640 [PMID: 21278243 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-10-2169]
21 Luo HR, Lü XM, Yao YG, Horie N, Takeishi K, Jorde LB, Zhang YP. Length polymorphism of thymidylate synthase regulatory region in Chinese populations and evolution of the novel alleles. *Biochem Genet* 2002; 40: 41-51 [PMID: 11989786]
22 刘永萍, 凌扬, 张亚平, 刘宝瑞. 铂类化疗药物相关基因多态性对含奥沙利铂方案辅助化疗胃癌患者疗效的影响. 中华医学杂志 2011; 91: 256-260

编辑 田滢 电编 闫晋利

■同行评价
本文探讨并检测了GC患者外周血和肿瘤组织中TYMS和ERCC1的多态性, 比较各基因型在外周血和肿瘤组织中是否一致, 从而为GC患者化疗及时、准确地实施提供了有效的辅助手段, 具有一定的临床意义.

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》外文字符标准

本刊讯 本刊论文出现的外文字符应注意大小写、正斜体与上下角标. 静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服*po*, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P^H, *H pylori*不能写成HP, T1/2不能写成tl/2或$T\frac{1}{2}$, *V*max不能Vmax, μ不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种. 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H.pylori*), *Ilex pubescens* Hook, *et* Arn.*var.glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数*K*; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验和概率*P*, 相关系数*r*); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*)如*n*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), 例如*n*-butyl acetate(醋酸正丁酯), *N*-methylacetanilide(N-甲基乙酰苯胺), *o*-cresol(邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline(3-O-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine(右旋苯丙胺), *l*-dopa(左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸). 拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*; Ibid, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m*(质量), *V*(体积), *F*(力), *p*(压力), *W*(功), *v*(速度), *Q*(热量), *E*(电场强度), S(面积), *t*(时间), *z*(酶活性, kat), *t*(摄氏温度, ℃), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq), ρ(密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L), φ(体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径), T_{max}, C_{max}, *V*d, $T_{1/2}$ *Cl*等. 基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白.

世界华人消化杂志 2013年6月28日; 21(18): 1766-1771
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

HBeAg阳性和阴性慢性乙型肝炎患者肝组织病理结果分析158例

马俊骥, 冯丽英, 冯志杰, 姜慧卿, 孙泽明, 赵丽梅

■背景资料
流行病学统计显示, 全球1/3的人群曾经感染过乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV), 慢性HBV感染表现多样, 可以为携带者也可以为慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB), 还可以进展为肝硬化, 甚至肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC). 据估计我国现有CHB患者大约2000万例.

马俊骥, 冯丽英, 冯志杰, 姜慧卿, 孙泽明, 赵丽梅, 河北医科大学第二医院消化内科, 河北省消化病实验室, 河北省消化病研究所 河北省石家庄市 050000
马俊骥, 主治医师, 主要从事慢性肝病和消化系肿瘤的研究.
国家自然科学基金资助项目, Nos. 81200311, 81170411
作者贡献分布: 此课题由马俊骥与姜慧卿共同设计; 研究过程由马俊骥、冯丽英、冯志杰、姜慧卿及孙泽明共同操作完成; 数据分析由马俊骥、赵丽梅及姜慧卿完成; 本论文写作由马俊骥、冯丽英、冯志杰、姜慧卿及孙泽明共同完成.
通讯作者: 姜慧卿, 教授, 主任医师, 050000, 河北省石家庄市新华区和平西路215号, 河北医科大学第二医院消化内科.
huiqingjiang@yahoo.com.cn
电话: 0311-66002955
收稿日期: 2013-03-08 修回日期: 2013-05-20
接受日期: 2013-05-25 在线出版日期: 2013-06-28

Pathological characteristics of chronic hepatitis B in HBeAg-positive and HBeAg-negative patients: An analysis of 158 cases

Jun-Ji Ma, Li-Ying Feng, Zhi-Jie Feng, Hui-Qing Jiang, Ze-Ming Sun, Li-Mei Zhao

Jun-Ji Ma, Li-Ying Feng, Zhi-Jie Feng, Hui-Qing Jiang, Ze-Ming Sun, Li-Mei Zhao, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University; Hebei Key Laboratory of Gastroenterology, Hebei Institute of Gastroenterology, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China
Supported by: the National Natural Science Foundation of China, Nos. 81200311 and 81170411
Correspondence to: Hui-Qing Jiang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University; Hebei Key Laboratory of Gastroenterology, Hebei Institute of Gastroenterology, 215 Heping West Road, Xinhua District, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China. huiqingjiang@yahoo.com.cn
Received: 2013-03-08 Revised: 2013-05-20
Accepted: 2013-05-25 Published online: 2013-06-28

Abstract

AIM: To find the differences in liver histopathology between HBeAg-positive and HBeAg -negative patients with chronic hepatitis B (CHB), and to analyze their relationship with clinical data.

METHODS: CHB patients (n = 158) who were admitted to the Second Hospital of Hebei Medical University for a liver biopsy from January 2005 to December 2012 were enrolled. They were divided into an HBeAg-positive (n = 86) and an HBeAg-negative group (n = 72) based on the presence of HBeAg or not. Gender, age, alanine aminotransferase (ALT) and HBV DNA viral load were recorded and statistically analyzed with SPSS 13.0.

RESULTS: The age differed significantly between the HBeAg-positive group and HBeAg-negative group (t = -7.50, P < 0.01), although there was no statistically significant difference in sex ratio between the two groups (χ^2 = 0.10, P > 0.05). A significant difference was noted in the constituent ratio of liver fibrosis stages between the two groups (χ^2 = 20.79, P < 0.01). The fibrosis stage score in HBeAg-positive women was lower than that in men (1.48 ± 0.69 *vs* 2.09 ± 1.29, P < 0.05). For HBeAg-positive patients, both inflammation grade and fibrosis stage scores were significantly higher in the > 40 years age group than in the 30-40 years age group and < 30 years age group (2.93 ± 1.03 *vs* 2.09 ± 1.27, 2.16 ± 0.69; 2.67 ± 1.23 *vs* 1.86 ± 1.25, 1.65 ± 0.99, all P < 0.05). For HBeAg-negative patients, fibrosis stage score was significantly lower in the < 30 years age group than in the 30-40 years age group and > 40 years age group (1.57 ± 0.98 *vs* 2.73 ± 1.37, 3.03 ± 1.06, both P < 0.05). In the HBeAg-positive group, there was a positive correlation between age and inflammation grade or fibrosis stage score (r = 0.30, 0.34, both P < 0.01). In the HBeAg-negative group, there was also a positive correlation between age and inflammation grade or fibrosis stage score (r = 0.26, 0.34, both P < 0.05). In the HBeAg-positive group, ALT levels were positively correlated with inflammation grade or fibrosis stage score (r = 0.32, 0.24, both P < 0.05). In the HBeAg-negative group, ALT levels were positively correlated inflammation grade score (r = 0.33, P < 0.01). There was a significant difference in the constituent ratio of viral load between the two groups of patients (χ^2 = 38.63, P < 0.01). The positive rate of HBV DNA was significantly higher in the HBeAg-positive group (73/86) than in the HBeAg-

■同行评议者
陈建杰, 教授, 上海中医药大学附属曙光医院(东部)肝病科; 张明辉, 副主任医师, 河北医科大学第一医院肝病中心(传染病)

negative group (37/72). In the HBeAg-positive group, viral load was negatively correlated with inflammation grade score (r = -0.25, P < 0.05). In the HBeAg-negative group, viral load was positively correlated with inflammation grade or fibrosis stage score (r = 0.40, 0.43, both P < 0.05).

CONCLUSION: There is a certain correlation between gender, age, ALT and HBV DNA viral load and liver pathological changes in both HBeAg-positive and -negative CHB patients. Liver injury may sometimes be heavier in HBeAg-negative CHB patients than in HBeAg-positive CHB patients.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Chronic hepatitis B; Hepatitis B virus; Hepatitis B e antigen; Liver histopathology; Alanine aminotransferase

Ma JJ, Feng LY, Feng ZJ, Jiang HQ, Sun ZM, Zhao LM. Pathological characteristics of chronic hepatitis B in HBeAg-positive and HBeAg-negative patients: An analysis of 158 cases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(18): 1766-1771 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1766.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i18.1766

摘要

目的: 评估乙型肝炎E抗原(hepatitis be e antigen, HBeAg)阳性和阴性慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)患者肝组织病理存在的差异, 并分析其与临床基本资料的关系.

方法: 病例资料来自2005-01/2012-12在河北医科大学第二医院消化内科住院并做肝脏活组织检查的CHB患者. 根据乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)血清标志物乙型肝炎表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)和HBeAg区分HBeAg阳性和HBeAg阴性CHB患者, 同时记录性别、年龄、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)和HBV DNA病毒载量, 并进行统计分析. 统计学处理采用SPS13.0统计软件, 计量资料采用mean±SD表示, 两样本均数的比较, 如为正态分布用t检验, 偏态分布用Mann-Whitney检验, 多组计量资料的两两比较采用ANOVA检验. 相关性分析采用Pearson检验. 计数资料采用χ^2检验.

结果: 158例CHB患者根据血清标志物HBeAg分为HBeAg阳性组86例和HBeAg阴性组72例, 两组年龄差异有统计学意义(t = -7.50, P<0.01), 性别比例差异无统计学意义(χ^2 = 0.10, P>0.05). HBeAg阳性组与HBeAg阴性组在肝脏纤维化分期构成比上存在统计学差异(χ^2 = 20.79, P<0.01). HBeAg阳性组女性纤维化分期积分比男性低(1.48±0.69 *vs* 2.09±1.29, P<0.05). HBeAg阳性组40岁以上CHB患者炎症分级及纤维化分期积分(2.93±1.03和2.67±1.23)均高于30-40岁组(2.09±1.27和1.86±1.25)和30岁以下年龄组(2.16±0.69和1.65±0.99), 有统计学意义(P<0.05). HBeAg阴性组30岁以下CHB患者纤维化分期积分(1.57±0.98)明显低于30-40岁组(2.73±1.37)和40岁以上年龄组(3.03±1.06), 有统计学意义(P<0.05). 在HBeAg阳性, 年龄与炎症分级和纤维化分期积分均成正相关(r = 0.30, 0.34, P<0.01). 在HBeAg阴性组, 年龄与炎症分级和纤维化分期积分也均成正相关(r = 0.26, 0.34, P<0.05). HBeAg阳性组ALT与炎症分级和纤维化分期积分均成正相关(r = 0.32、0.24, P<0.05); 在HBeAg阴性组, ALT与炎症分级积分成正相关(r = 0.33, P<0.01), 与纤维化分期积分无相关性(P>0.05). HBeAg阳性组与HBeAg阴性组在病毒载量构成比上存在统计学差异(χ^2 = 38.63, P<0.01), HBeAg阳性组HBV DNA阳性率(73/86)明显比HBeAg阴性组高(37/72). HBeAg阳性组, 病毒载量与炎症分级积分成负相关(r = -0.25, P<0.05); HBeAg阴性组病毒载量与炎症分级及纤维化分期积分均成正相关(r = 0.40、0.43, P<0.05).

结论: 性别、年龄、ALT及HBV DNA病毒量与HBeAg阳性/阴性CHB患者肝脏病理改变之间存在一定的相关性, 有时HBeAg阴性CHB患者的肝脏损伤可能会更重, 临床上需要结合病理综合考虑并密切随访.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 慢性乙型肝炎; 乙型肝炎病毒; 乙型肝炎E抗原; 肝脏病理; 谷丙转氨酶

核心提示: 性别、年龄、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase)及HBV DNA病毒量与乙型肝炎E抗原(hepatitis be e antigen, HBeAg)阳性/阴性慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)患者肝脏病理改变之间存在一定的相关性, 有时HBeAg阴性CHB患者的肝脏损伤可能会更重, 临床上需要结合病理综合考虑并密切随访.

马俊骥, 冯丽英, 冯志杰, 姜慧卿, 孙泽明, 赵丽梅. HBeAg阳性和阴性慢性乙型肝炎患者肝组织病理结果分析158例. 世界华人消化杂志 2013; 21(18): 1766-1771 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1766.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i18.1766

■研发前沿

CHB给患者家庭造成了沉重的经济负担, 其中肝硬化患者的花费比无肝硬化患者增加了近1倍, 晚期肝硬化和肝癌常常是CHB患者致死的原因. 临床上CHB患者血清乙型肝炎表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)均表现为阳性, 根据患者血清乙型肝炎E抗原(hepatitis be e antigen, HBeAg)检测结果分为HBeAg阳性和HBeAg阴性两类, 两类患者在临床表现、治疗方案和预后方面存在较多差异.

■相关报道
男性CHB患者更容易发展为肝硬化，本研究中与女性患者相比，男性患者的纤维化分期积分更高，与之前的报道一致. CHB存在一个慢性转变的过程，HBeAg阴性不是治疗终点. 国外有相关报道认为对于HBeAg阴性CHB患者ALT变化与肝脏纤维化分期不相关.

0 引言

流行病学统计显示, 全球1/3的人群曾经感染过乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV), 慢性HBV感染表现多样, 可以为携带者也可以为慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB), 还可以进展为肝硬化, 甚至肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)[1,2]. 据估计我国现有CHB患者大约2000万例[3].

CHB患者的抗病毒治疗适应证包括: 乙型肝炎E抗原(hepatitis be e antigen, HBeAg)阳性者, HBV DNA≥10^5拷贝/mL(相当于20 000 IU/mL); HBeAg阴性者, HBV DNA≥10^4拷贝/mL(相当于2000 IU/mL); 谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)≥2倍正常值上限(upper limits of normal, ULN); 或ALT<2×ULN, 但肝组织学显示Knodell HAI≥4或炎症坏死≥G2, 或纤维化≥S2. 有时一部分ALT轻度异常CHB患者肝组织可以出现严重损伤甚至肝硬化, 因此对这部分患者进行肝活组织检查显具有重要的临床意义[4-6]. 我们总结了本院158例CHB患者肝脏组织穿刺的病理检查结果, 并探讨HBeAg阳性或阴性CHB患者性别、年龄、ALT及HBV DNA病毒量与肝脏病理表现之间的关系, 以期为临床诊断和治疗方案的选择提供理论依据.

1 材料和方法

1.1 材料 病例来自2005-01/2012-12住院并经肝脏活组织检查的CHB患者158例. 入选标准: (1)按2010年《慢性乙型肝炎防治指南》标准: 既往有乙型肝炎病史或乙型肝炎表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)阳性史超过6 mo, 现HBsAg和/或HBV DNA仍阳性; (2)患者临床、生物化学及血液学数据均在肝穿刺前3 d内采集, 且均收集了人口统计学、临床、实验室和病毒学等资料[5]. 排除标准: 人类免疫缺陷病毒或慢性HCV感染; 饮酒量>30 g/d; 代谢性或其他类型的肝损害; 肝活检查组织不符合标准. 接受伦理委员会审查, 签署知情同意书, 研究符合伦理要求.

1.2 方法

1.2.1 实验室检测: 受检对象于肝穿刺前3 d内取清晨空腹静脉血检测相关指标. 血常规用美国贝克曼库尔特LH750全自动五分类血液分析仪计数, ALT等生物化学指标用DXC800全自动生物化学分析仪检测. HBV血清标志物(包括HBsAg、HbsAb、HBeAg、HBeAb和HBcAb)采用德国罗氏试剂检测. HBV DNA采用实时PCR定量检测法, 试剂盒由中山大学达安基因股份有限公司(广州)提供, HBV DNA定量单位为拷贝/mL, 其检测下限是1000拷贝/mL.

1.2.2 肝脏病理检查: 患者住院后按肝活组织检查术前常规进行检测及肝脏穿刺超声定位, 签署知情同意书, 合格者在病房床边采用Pajunk PrimoCut 16 G肝穿刺针于呼气末进针取肝脏组织检查, 标本长度≥1.5 cm, 汇管区数量≥6个. 标本用10%甲醛溶液固定, 制成常规石蜡切片, 行苏木素-伊红(HE)和Masson三色法染色, 光学显微镜多视野观察, 按《病毒性肝炎防治方案》中的肝组织病理学诊断标准行炎症分级(G0-4)和纤维化分期(S0-4), 并据此将患者分为轻度(G1-2, S0-2)、中度(G3, S1-3)和重度(G4, S2-4)[6]. 病理诊断由我院病理医师独立完成.

统计学处理 建立数据库, 采用SPSS13.0统计软件进行分析. 计量资料采用mean±SD表示, 两样本均数的比较, 如为正态分布用*t*检验, 偏态分布用Mann-Whitney检验, 多组计量资料的两两比较采用ANOVA检验. 相关性分析采用Pearson检验. 计数资料采用χ^2检验. P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 患者一般资料 158例CHB患者中, 男103例, 女55例, 年龄15-69岁, 平均36岁±12岁. HBeAg阳性患者86例, 男57例, 女29例, 平均年龄30岁±10岁; HBeAg阴性患者72例, 男46例, 女26例, 平均年龄43岁±11岁. 两组年龄差异有统计学意义(t = -7.50, P<0.01), 性别比例差异无统计学意义(χ^2 = 0.10, P>0.05).

2.2 肝组织炎症分级(G)和纤维化分期(S)构成比的比较 HBeAg阳性组与HBeAg阴性组在肝脏纤维化分期构成比上存在统计学差异(χ^2 = 20.79, P<0.01), HBeAg阴性组S4所占比例(31/72)明显高于HBeAg阳性组(14/86)(χ^2 = 13.79, P<0.01), 而HBeAg阴性组S1所占比例(11/72)明显少于HBeAg阳性组(36/86)(χ^2 = 13.79, P<0.01)(表1). HBeAg阳性与HBeAg阴性两组在肝脏病理炎症分级构成比上差异无统计学意义(χ^2 = 4.84, P>0.05), 但是HBeAg阴性组G2所占比例(24/72)明显少于HBeAg阳性组(42/86)(χ^2 = 13.79, P<0.01, 表2).

2.3 性别、年龄与肝组织炎症分级(G)和纤维化分期(S)的关系 肝组织炎症分级和纤维化分期积

表 1 HBeAg阳性和阴性慢性乙型肝炎患者肝组织纤维化分期 *n*(%)

分组	*n*	S0	S1	S2	S3	S4
HBeAg阳性组	86	4(4.65)	36(41.86)	26(30.23)	6(6.98)	14(16.28)
HBeAg阴性组	72	2(2.78)	11(15.28)	19(26.39)	9(12.50)	31(43.05)
χ^2值		0.38	13.25	0.28	1.39	13.79
*P*值		0.54	0.00	0.59	0.24	0.00

表 2 HBeAg阳性与阴性慢性乙型肝炎患者肝组织炎症分级 *n*(%)

分组	*n*	G0	G1	G2	G3	G4
HBeAg阳性组	86	2(2.32)	13(15.12)	42(48.84)	17(19.77)	12(13.95)
HBeAg阴性组	72	1(1.39)	11(15.28)	24(33.33)	20(27.78)	16(22.22)
χ^2值		0.19	0.001	3.87	1.40	1.84
*P*值		0.67	0.98	0.049	0.24	0.18

■创新盘点

HBeAg阳性患者肝纤维化分期与病毒载量关系不密切, 但是在HBeAg阴性患者病毒载量却与肝纤维化分期密切相关.

分采用以下方式进行[7]: G0 = 0, G1 = 1, G2 = 2, G3 = 3, G4 = 4; S0 = 0, S1 = 1, S2 = 2, S3 = 3, S4 = 4. HBeAg阳性组女性纤维化分期积分比男性低(1.48±0.69 *vs* 2.09±1.29, *P*<0.05), 炎症分级积分无差异(*P*>0.05); HBeAg阴性组炎症分级和纤维化分期积分均无统计学差异(*P*>0.05).

HBeAg阳性组40岁以上CHB患者炎症分级积分(2.93±1.03)均高于30-40岁组(2.09±1.27)和30岁以下年龄组(2.16±0.69), 有统计学意义(*P*<0.05). 纤维化分期40岁以上CHB患者(2.67±1.23)也高于30-40岁组(1.86±1.25)和30岁以下年龄组(1.65±0.99), 有统计学意义(*P*<0.05). HBeAg阴性组30岁以下CHB患者纤维化分期积分(1.57±0.98)明显低于30-40岁组(2.73±1.37)和40岁以上年龄组(3.03±1.06), 有统计学意义(*P*<0.05). 炎症分级积分3个年龄组之间无统计学差异(*P*>0.05). HBeAg阳性组, 年龄与炎症分级积分成正相关G(*r* = 0.30, *P*<0.01), 年龄与纤维化分期积分也成正相关(*r* = 0.34, *P*<0.01). HBeAg阴性组, 年龄与炎症分级积分成正相关(*r* = 0.26, *P*<0.05), 年龄与纤维化分期积分也成正相关(*r* = 0.34, *P*<0.01).

2.4 ALT与肝组织炎症分级(G)和纤维化分期(S)的关系 HBeAg阳性组与HBeAg阴性组ALT分别按照2倍ULN分组计算构成比差异无统计学意义(χ^2 = 0.57, *P*>0.05).

HBeAg阳性组ALT含量在2倍ULN上的CHB患者炎症分级积分(3.13±1.06)明显高于在2倍ULN下的CHB患者(2.10±0.85), 有统计学意义(*P*<0.05); ALT含量在2倍ULN上的CHB患者纤维化分期积分(2.67±1.35)明显高于在2倍ULN下的CHB患者(1.72±1.04), 有统计学意义(*P*<0.05). HBeAg阴性组ALT含量在2倍ULN上的CHB患者炎症分级积分(3.13±0.62)明显高于在2倍ULN下的CHB患者(2.38±1.09), 有统计学意义(*P*<0.05); HBeAg阴性组中两个ALT分组纤维化分期积分无统计学差异(*P*>0.05). HBeAg阳性组, ALT与炎症分级积分成正相关 (*r* = 0.32, *P*<0.01), 与纤维化分期积分也成正相关(*r* = 0.24, *P*<0.05). HBeAg阴性组, ALT与炎症分级积分成正相关(*r* = 0.33, *P*<0.01), ALT与纤维化分期积分无相关性 (*r* = 0.19, *P* = 0.12).

2.5 HBV-DNA病毒载量与肝组织炎症分级(G)和纤维化分期(S)的关系 HBeAg阳性组与HBeAg阴性组在病毒载量构成比上存在统计学差异(χ^2 = 38.63, *P*<0.01), HBeAg阳性组HBV DNA阳性率(73/86)明显比HBeAg阴性组HBV DNA阳性率(37/72)高(表3). 在HBeAg阳性组, 病毒载量与炎症分级积分成负相关(*r* = -0.25, *P*<0.05). 病毒载量与纤维化分期积分无相关性(*r* = -0.18, *P*>0.05). 在HBeAg阴性组, 病毒载量与炎症分级积分成正相关(*r* = 0.40, *P*<0.05); 病毒载量与纤维化分期积分也成正相关(*r* = 0.43, *P*<0.01).

3 讨论

CHB给患者家庭造成了沉重的经济负担, 其中肝硬化患者的花费比无肝硬化患者增加了近1倍, 晚期肝硬化和肝癌常常是CHB患者致死的原因[3,8]. 临床上CHB患者血清HBsAg均表现为阳性, 根据患者血清HBeAg检测结果分为

■应用要点
CHB患者发展为肝硬化的危险因素包括男性和年龄大, HBeAg阳性CHB患者肝硬化危险因素还包括ALT水平增高, HBeAg阴性CHB患者肝硬化危险因素还包含高水平的HBV DNA病毒载量.

表 3 HBeAg阳性与阴性慢性乙型肝炎不同病毒载量患者的构成比 *n*(%)

分组	*n*	<10^3拷贝/mL	≥10^3 <10^5拷贝/mL	≥10^5拷贝/mL
HBeAg阳性组	86	13(15.12)	11(12.79)	62(72.09)
HBeAg阴性组	72	35(48.61)	20(27.78)	17(23.61)
χ^2值		20.79	5.58	41.49
*P*值		0.00	0.02	0.00

HBeAg阳性和HBeAg阴性两类, 两类患者在临床表现、治疗方案和预后方面存在较多差异[9-11]. 肝脏组织学检查是诊断CHB肝脏损伤的最可靠依据, 限于肝穿操作属有创损伤不是每个患者都适合, 临床应用需要严格掌握适应证和禁忌症.

CHB患者肝脏病理和性别、年龄、ALT水平和病毒载量之间关系较为复杂, 因此我们按照HBeAg阳性和HBeAg阴性的分类方法分析了158例CHB患者的临床资料. 本研究显示HBeAg阳性组轻度肝纤维化患者相对偏多, 并且HBeAg阳性组炎症分级G2组比例偏高, HBeAg阴性组肝硬化患者所占比例偏高. 这个结果提示我们对于HBeAg阴性患者绝对不能掉以轻心, 有时候对于HBeAg阴性和HBeAg阳性患者结合肝脏穿刺病理检查判断抗病毒治疗和预后是很有必要的.

我们进而分析了CHB患者性别与肝脏病理变化之间的关系. 研究显示与女性患者相比, 男性患者的纤维化分期积分更高, 这说明男性CHB患者更容易发展为肝硬化, 与之前的报道一致[2,12]. 肝硬化是HCC发生的高危因素, 晚期肝硬化还常并发消化道出血、肝性脑病、继发感染、脾功能亢进和腹水等病症, 严重影响了患者生活质量, 因此对于男性CHB患者需要给予更多关注.

HBeAg阳性和阴性组患者的年龄构成比有差异, HBeAg阴性组平均年龄比HBeAg阳性组大. 不论HBeAg阳性还是阴性CHB患者肝脏病理炎症分级和纤维化均与年龄成正相关, 说明随着年龄的增加患CHB病情逐渐加重, 肝硬化的风险也就增大. 另外年轻的CHB患者可能存在免疫耐受状态, 病情相对较轻. HBeAg阳性可以转变为阴性, 这说明CHB存在一个慢性转变的过程, HBeAg阴性不是治疗终点, 临床上可能需要结合ALT和病毒载量等其他临床资料密切随访治疗[13-15].

ALT分子量大约110 kDa, 主要存在于肝细胞胞浆内, 血清中ALT正常值<40 U/L. HBV感染后可以使肝细胞变性坏死, 而1%的肝细胞坏死就可以使血清ALT增高1倍, 因此ALT升高是肝脏功能损伤的一个重要指标[16]. 我们的研究显示不论HBeAg阳性还是HBeAg阴性患者, 随着ALT升高肝脏炎症分级积分都会增加, 在HBeAg阳性患者ALT水平升高与肝脏纤维化分期密切相关, 这说明一般情况下ALT可以反映CHB患者的肝脏损伤情况. 在临床上有部分HBeAg阴性CHB患者ALT可以长期处于正常水平, 但是肝脏却逐渐发展为肝硬化甚至有肝癌的病例发生, 本研究也显示HBeAg阴性患者ALT升高与肝脏纤维化分期关系不密切, 这与国外的一些相关报道是一致的[4,15,17].

HBV DNA长链约3200 bp左右, 是一种小的嗜肝DNA病毒, CHB患者血清中以HBV颗粒形式存在. 本研究证明HBeAg阴性患者HBV病毒载量普遍比HBeAg阳性患者病毒载量低, 但是在HBeAg阳性患者病毒载量与肝脏炎症分级积分是负相关关系, 而HBeAg阴性患者病毒载量则与肝脏炎症分级成正相关. 这可能是由于部分HBeAg阳性高病毒载量患者处于免疫耐受期有关, 与此相反大部分HBeAg阴性患者处于一个免疫清除阶段. 在HBeAg阳性患者肝纤维化分期与病毒载量关系不密切, 但是在HBeAg阴性患者病毒载量却与肝纤维化分期有密切的关系, 这提示我们对于HBeAg转阴患者不能掉以轻心, 需要密切关注患者病毒量并及时做抗病毒治疗, 定期随诊, 防止慢性肝炎进展为肝硬化[18].

总之, 本研究认为CHB患者发展为肝硬化的危险因素包括男性和年龄大, HBeAg阳性CHB患者肝硬化危险因素还包括ALT水平增高, HBeAg阴性CHB患者肝硬化危险因素还包含高水平的HBV DNA病毒载量. 肝脏活组织检查是判断CHB患者肝脏炎症损害的关键指标, 可以指导临床抗病毒治疗和预测预后. 因此, 在临床上需要适时选择肝脏活组织检查并综合评估患者多项指标确定治疗方案, 以能给CHB患者带

来最大的健康收益为最终目的.

志谢: 感谢河北医科大学第二医院病理科提供的技术支持.

4 参考文献

1 European Association For The Study Of The Liver. EASL clinical practice guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 2012; 57: 167-185 [PMID: 22436845 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.02.010]

2 Chen CJ, Yang HI, Su J, Jen CL, You SL, Lu SN, Huang GT, Iloeje UH. Risk of hepatocellular carcinoma across a biological gradient of serum hepatitis B virus DNA level. *JAMA* 2006; 295: 65-73 [PMID: 16391218 DOI: 10.1001/jama.295.1.65]

3 Lu FM, Zhuang H. Management of hepatitis B in China. *Chin Med J* (Engl) 2009; 122: 3-4 [PMID: 19187608]

4 Göbel T, Erhardt A, Herwig M, Poremba C, Baldus SE, Sagir A, Heinzel-Pleines U, Häussinger D. High prevalence of significant liver fibrosis and cirrhosis in chronic hepatitis B patients with normal ALT in central Europe. *J Med Virol* 2011; 83: 968-973 [PMID: 21503908 DOI: 10.1002/jmv.22048]

5 中华医学会肝病学分会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2010年版). 中华肝脏病杂志 2011; 19: 13-24

6 中华医学会传染病与寄生虫病学分会, 肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案. 中华肝脏病杂志 2000; 8: 324-329

7 张雯, 周文红, 丁世雄. HBeAg阳性/阴性慢性乙型肝炎的临床病理特征对比分析. 中华临床感染病杂志 2011; 4: 277-230

8 Blachier M, Leleu H, Peck-Radosavljevic M, Valla DC, Roudot-Thoraval F. The burden of liver disease in Europe: a review of available epidemiological data. *J Hepatol* 2013; 58: 593-608 [PMID: 23419824 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.12.005]

9 Chen CJ, Yang HI. Natural history of chronic hepatitis B REVEALed. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26: 628-638 [PMID: 21323729 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06695.x]

10 Coffin CS, Fung SK, Ma MM. Management of chronic hepatitis B: Canadian Association for the Study of the Liver consensus guidelines. *Can J Gastroenterol* 2012; 26: 917-938 [PMID: 23248795]

11 Su TH, Liu CJ, Tseng TC, Liu CH, Yang HC, Chen CL, Chen PJ, Kao JH, Chen DS. Longitudinal change of HBsAg in HBeAg-negative patients with genotype B or C infection. *PLoS One* 2013; 8: e55916 [PMID: 23437072 DOI: 10.1371/journal.pone.0055916]

12 Ganem D, Prince AM. Hepatitis B virus infection--natural history and clinical consequences. *N Engl J Med* 2004; 350: 1118-1129 [PMID: 15014185 DOI: 10.1056/NEJMra031087]

13 吴晓鹭, 刘小斌, 刘家俊. 按年龄分层的HBeAg阳性与阴性慢性乙型肝炎临床特征分析. 中华临床感染病杂志 2011; 4: 184-186

14 Kennedy PT, Sandalova E, Jo J, Gill U, Ushiro-Lumb I, Tan AT, Naik S, Foster GR, Bertoletti A. Preserved T-cell function in children and young adults with immune-tolerant chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2012; 143: 637-645 [PMID: 22710188 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.06.009]

15 Alam S, Ahmad N, Mustafa G, Shrestha A, Alam AK, Khan M. Evaluation of normal or minimally elevated alanine transaminase, age and DNA level in predicting liver histological changes in chronic hepatitis B. *Liver Int* 2011; 31: 824-830 [PMID: 21645213 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2011.02491.x]

16 Kim WR, Flamm SL, Di Bisceglie AM, Bodenheimer HC. Serum activity of alanine aminotransferase (ALT) as an indicator of health and disease. *Hepatology* 2008; 47: 1363-1370 [PMID: 18366115 DOI: 10.1002/hep.22109]

17 Papatheodoridis GV, Manolakopoulos S, Liaw YF, Lok A. Follow-up and indications for liver biopsy in HBeAg-negative chronic hepatitis B virus infection with persistently normal ALT: a systematic review. *J Hepatol* 2012; 57: 196-202 [PMID: 22450396 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.11.030]

18 Iloeje UH, Yang HI, Su J, Jen CL, You SL, Chen CJ. Predicting cirrhosis risk based on the level of circulating hepatitis B viral load. *Gastroenterology* 2006; 130: 678-686 [PMID: 16530509 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.11.016]

编辑 田滢 电编 闫晋利

■同行评价

本文较好地反映我国或国际胃肠病学临床和基础研究的先进水平, 具有一定的指导意义.

世界华人消化杂志 2013年6月28日; 21(18): 1772-1775
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

ERCP前后肝功能指标的临床意义

宋 雯, 卜 平, 陈超伍, 刘 军, 邓登豪, 陈 娟

■背景资料
本文对我科2012-09/2013-02经逆行胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)证实为胆总管结石、恶性梗阻、炎性狭窄、并化验过肝功能的104例患者的病例资料进行分析, 总结ERCP治疗对不同患者肝功能的意义及术后损害的可能原因.

宋雯, 卜平, 陈超伍, 刘军, 邓登豪, 陈娟, 扬州大学临床医学院消化科 江苏省扬州市 225001
宋雯, 主要从事中西医结合治疗消化病的研究.
作者贡献分布: 此课题由宋雯与卜平设计; 研究过程由宋雯、陈超伍、刘军、邓登豪及陈娟共同操作完成; 研究所用分析工具由卜平提供; 数据分析由宋雯完成; 本论文写作由宋雯与卜平共同完成.
通讯作者: 卜平, 教授, 225001, 江苏省扬州市淮海路11号, 扬州大学临床医学院消化科. boping@yzu.edu.cn
收稿日期: 2013-04-11 修回日期: 2013-05-14
接受日期: 2013-05-19 在线出版日期: 2013-06-28

Clinical significance of liver function indexes in patients before and after ERCP

Wen Song, Ping Bo, Chao-Wu Chen, Jun Liu, Deng-Hao Deng, Juan Chen

Wen Song, Ping Bo, Chao-Wu Chen, Jun Liu, Deng-Hao Deng, Juan Chen, Department of Gastroenterology, Clinical Medical College of Yangzhou University, Yangzhou 225001, Jiangsu Province, China
Correspondence to: Ping Bo, Professor, Department of Gastroenterology, Clinical Medical College of Yangzhou University, 11 Huaihai Road, Yangzhou 225001, Jiangsu Province, China. boping@yzu.edu.cn
Received: 2013-04-11 **Revised:** 2013-05-14
Accepted: 2013-05-19 **Published online:** 2013-06-28

Abstract

AIM: To analyze the clinical significance of liver function indexes in patients before and after endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP).

METHODS: In total, 104 patients with bile duct stones, malignant obstruction, or inflammatory stenosis who underwent ERCP in Subei Hospital were included in the study. Serum levels of aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), and gamma-glutamyl transpeptidase (GGT) were determined preoperatively and postoperatively in these patients.

RESULTS: Liver function indexes showed no significant difference in all patients between before and after ERCP ($P > 0.05$). Preoperative and postoperative ALP levels and preoperative GGT level were significantly higher in the malignant obstruction group than in the bile duct stones group (both $P < 0.05$), although both preoperative and postoperative AST levels had no significant difference between the two groups ($P > 0.05$). Both preoperative and postoperative AST, ALP and GGT levels showed no significant differences between the inflammatory stricture group and the stones group ($P > 0.05$).

CONCLUSION: ERCP does not increase the incidence of liver dysfunction. Preoperative and postoperative ALP levels are significantly higher in patients with malignant obstruction than in patients with bile duct stones.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Aspartate aminotransferase; Alkaline phosphatase; Gamma-glutamyl transpeptidase; Endoscopic retrograde cholangiopancreatography

Song W, Bo P, Chen CW, Liu J, Deng DH, Chen J. Clinical significance of liver function indexes in patients before and after ERCP. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(18): 1772-1775 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1772.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i18.1772

摘要

目的: 分析在逆行胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)手术中结石、恶性梗阻、炎性狭窄患者肝功能指标的临床意义.

方法: 104例在苏北医院行ERCP手术治疗的患者, 对肝功能指标的谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、谷氨酰转移酶(gamma-glutamyl transpeptidase, GGT)进行分析.

结果: 所有行ERCP手术的患者, 术前术后肝功能指标无显著差异($P>0.05$), 恶性梗阻组与结石组患者相比, 无论术前与术后, AST水平无明显差异($P>0.05$), ALP水平明显高于结石组($P = 0.000$, <0.05), 术前恶性梗阻组GGT水平明显高于结石组($P = 0.024$, <0.05), 术后

■同行评议者
甘华田, 教授, 四川大学华西医院老年消化内科; 江学良, 教授, 主任医师, 中国人民解放军济南军区总医院消化科; 王蒙, 副教授, 第二军医大学附属东方肝胆外科医院肝外综合治疗一科

GGT水平无明显差异(P>0.05), 炎性狭窄组与结石组相比, 无论术前术后, AST、ALP、GGT水平均无明显差异(P>0.05).

结论: ERCP不增加肝功能损害的发生, 恶性梗阻患者术前、术后ALP指标显著高于结石组.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 谷草转氨酶; 碱性磷酸酶; 谷氨酰转移酶; 逆行胰胆管造影术

核心提示: 逆行胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography)不会增加术后肝功能损害的风险, 安全有效, 值得临床进一步推广.

宋雯, 卜平, 陈超伍, 刘军, 邓登豪, 陈娟. ERCP前后肝功能指标的临床意义. 世界华人消化杂志 2013; 21(18): 1772-1775
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1772.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i18.1772

0 引言

内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)是在纤维十二指肠镜直视下通过十二指肠大乳头, 由活检管道插入塑料导管至乳头开口处, 打入造影剂后, 进行造影. 可直接观察十二指肠及乳头部的情况和病变, 有诊断价值, 还可行Oddi括约肌切开, 取出胆总管下端结石(用篮网进行收集), 进行内镜治疗. 随着ERCP技术的应用, 一些并发症也随之发生, 例如高淀粉酶血症、胆管炎、胰腺炎等. 本文对我科2012-09/2013-02经ERCP证实为胆总管结石、恶性梗阻、炎性狭窄、并化验过肝功能的104例患者的病例资料进行分析, 总结ERCP治疗对不同患者肝功能的意义及术后损害可能的原因.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2012-09/2013-02于我院住院治疗的104例经ERCP手术的患者, 分为3组, 64例胆管结石患者, 24例恶性梗阻患者(即有胆管癌、十二指肠乳头癌等), 15例炎性狭窄患者(如: 括约肌功能障碍、胆管炎). 所有患者腹部CT、磁共振胰胆管成像(magnetic resonance cholangiopancreatography, MRCP)提示胆管结石、胆管狭窄或乳头增大等ERCP手术适应证.

1.2 方法 对ERCP术前、术后患者血清谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、谷氨酰转移酶(gamma-glutamyl transpeptidase, GGT)水平进行回顾分析. 正常值设定为AST 0-50 U/L, ALP 25-150 U/L, GGT 0-50 U/L.

1.2.1 术前准备与器械: 患者行内镜下乳头肌切开术(endoscopic sphincterotomy, EST)术前, 禁食、禁水8 h, 术前行碘过敏试验阴性, 查凝血功能、感染4项及肝肾功能, 行心电图及胸片检查, 全面评估患者心、肺、肝、肾等脏器功能. 术前常规肌注654-210 mg, 口咽部利多卡因胶浆局麻, 静脉给予丙泊酚麻醉.

1.2.2 手术方法: 患者俯卧于X线检查台上, 经口将十二指肠镜插入到十二指肠降段, 找到十二指肠乳头开口处, 经乳头插入造影导管或切开刀利用导丝引导至胆总管, 再通过造影导管或切开刀注入造影剂以明确诊断和治疗, 根据相应的诊断行相应支架置入术或者乳头肌切开取石术.

1.2.3 术后检查: 术后24 h复查肝功能.

统计学处理 采用SPSS10.0软件统计, 所得数据以mean±SD表示, 组间比较采用t检验, P<0.05为有统计学意义.

2 结果

2.1 术前、术后肝功能结果比较 所有接受ERCP的104例患者术前、术后的肝功能指标, AST、ALP、GGT指标比较差异无统计学意义(P>0.05, 表1).

2.2 不同分组间术前术后AST、ALP、GGT水平 按疾病种类将所有进行ERCP的患者分为3组, 即结石组、恶性梗阻组、炎性狭窄组, 恶性梗阻组与结石组患者相比, 无论术前与术后, AST水平无明显差异(P>0.05), ALP水平明显高于结石组(P<0.05), 术前恶性梗阻组GGT水平明显高于结石组(P<0.05), 术后GGT水平无明显差异(P>0.05), 炎性狭窄组与结石组相比, 无论术前术后, AST、ALP、GGT水平均无明显差异(P>0.05)(表2).

3 讨论

随着内镜技术的发展及介入治疗的提高, 以ERCP为基础的内镜治疗技术在临床治疗疾病的过程中得到越来越广泛的应用, 治疗胆总管结石这类疾病趋向于微创的发展, 也成为大家首选的治疗方法, 避免了外科手术治疗, 及时解决了梗阻, 对于部分胆管结石患者做到诊治同

■研发前沿
ERCP在纤维十二指肠镜直视下通过十二指肠大乳头, 由活检管道插入塑料导管至乳头开口处, 打入造影剂后, 进行造影. 可直接观察十二指肠及乳头部的情况和病变, 有诊断价值, 还可行Oddi括约肌切开, 取出胆总管下端结石(用篮网进行收集), 进行内镜治疗. 随着ERCP技术的应用, 一些并发症也随之发生, 例如高淀粉酶血症、胆管炎、胰腺炎等.

■创新盘点
本文主要总结ERCP治疗对不同患者肝功能的意义, 及术后损害可能原因. 其他文章多从术后胰腺炎、高淀粉酶血症等进行研究, 这是一个新的切入点.

■应用要点
本文主要总结ERCP治疗对不同患者肝功能的意义, 及术后损害可能的原因. 可以称为ERCP实践的理论基础.

表 1 所有接受逆行胰胆管造影术患者术前、术后谷草转氨酶、碱性磷酸酶、谷氨酰转移酶的比较

	谷草转氨酶	碱性磷酸酶	谷氨酰转移酶
术前	111.9971 ± 208.505	209.6346 ± 205.125	299.3192 ± 331.9239
术后	121.8173 ± 183.8403	168.8846 ± 143.3776	290.8942 ± 274.1567

表 2 恶性梗阻、炎性狭窄与结石组术前、术后的差异

	谷草转氨酶		碱性磷酸酶		谷氨酰转移酶	
	术前	术后	术前	术后	术前	术后
结石	95.7969 ± 185.1789	144.9375 ± 223.1091	166.9531 ± 130.4312	171.9375 ± 116.7017	265.7531 ± 301.755	282.4219 ± 244.2397
恶性梗阻	185.1667 ± 296.1186	99.5417 ± 96.6927	361.0833 ± 196.6144[a]	330.9583 ± 155.7296[a]	461.8333 ± 382.5303[a]	388.625 ± 351.7919
炎性狭窄	67.0438 ± 90.5938	62.7500 ± 43.3136	153.1875 ± 131.3581	149.125 ± 115.7289	189.8125 ± 299.7686	178.1875 ± 216.0312

[a]$P<0.05$ *vs* 结石组.

步进行. 不仅如此, ERCP在微创治疗中有着不可替代的作用, 腹腔镜联合胆道镜、十二指肠镜治疗胆囊结石并胆总管结石, 创伤小、恢复快、安全可靠[1,2]. 随着ERCP技术的不断发展及成熟, ERCP治疗过程中并发症发生的几率也在不断下降. ERCP诊断及治疗的过程中, 常见的并发症有: 高淀粉酶血症、急性胰腺炎、出血、穿孔及胆道感染. ERCP术后并发症目前普遍认为与多种因素有关. 相关危险因素可分为两个方面: 患者本身因素和操作者因素. 患者本身因素有: 反复发胰腺炎病史、括约肌功能障碍、女性、年龄<60岁、胆囊切除、壶腹周围憩室、胆红素正常、胆管不扩张、免疫抑制、并存胆总管结石和梗阻性黄疸等. 操作者相关因素有: 小乳头括约肌切开、大胰管括约肌切开、插管困难、括约肌测压等[3,4].

急性化脓性胆管炎是ERCP术后常见的严重并发症. ERCP术后胆管炎发生率为0.9%-1.7%[5], 有学者认为内镜下鼻胆管引流术(endoscopic nasobiliary drainage; ENBD)可以明确减少胆管炎的发生[6]. 本实验中分析的患者术后未并发明确的胆管炎, 且术前术后肝功能统计学指标无显著差异($P>0.05$), 但仍有部分患者术前肝功能正常, 术后一过性肝功能异常, 考虑以下几个原因: (1)存在胆管的梗阻因素, 如: EST, 未能将胆胰管段完全切开, 切口过于水肿, 胆管内结石残留甚至嵌顿, 鼻胆管引流不畅, 造影剂排出困难等; (2)内镜下介入治疗是有创性及非无菌操作, 肿瘤患者免疫力较弱, 造影时外源性或内源性微生物同造影剂一起逆行进入胆管系统, 而恶性梗阻时肝内胆管被阻断, 不论是支架还是鼻胆管引流都很难把所有胆管内的造影剂引流完全[7].

本实验中, 无论良性还是恶性梗阻, 肝功能各指标明显异常, 表明胆道梗阻时, 肝功能损伤普遍存在. 肝外胆道梗阻胆管内压力增加, 胆汁流动障碍, 引起胆管扩张, 胆管细胞间连接改变, 从而使胆管的通透性增加, 胆汁反流进入血液导致胆汁淤积[8]. 胆汁淤积导致肠源性内毒素血症, 肝脏能量代谢障碍和氧自由基损伤, 胆汁酸诱导肝细胞凋亡, 肝脏缺血与肝脏血流动力学紊乱, 钙稳态失调等损伤肝脏和全身其他脏器[9], 其中肝脏是最先受损和损伤最严重的脏器. 许多学者认为在梗阻性黄疸中ALP相比AST, 是主要的异常的指标[10-12], 本实验中恶性梗阻组与结石组患者相比, 无论术前与术后, AST水平无明显差异($P>0.05$), ALP水平明显高于结石组($P<0.05$), 术前恶性梗阻组GGT水平明显高于结石组($P<0.05$), 术后GGT水平无明显差异($P>0.05$), 炎性狭窄组与结石组相比, 无论术前术后, AST、ALP、GGT水平均无明显差异($P>0.05$). 恶性梗阻组与胆管结石组术前相比ALP、GGT水平显著更高, 可能是因为恶性梗阻的患者狭窄的更彻底、梗阻的时间越长, 而胆管结石的患者肝功能指标可能会随着结石的运动而波动[13]. ERCP在胆管疾病的诊治中均有其极

高的价值, 特别是腔内超声、胆道子母镜等技术的运用, 可明显提高ERCP诊断的准确性. 而随着胆道支架的改进以及胆管内的放疗、光动力疗法的出现, 有望改善恶性梗阻性黄疸的预后[14].

总之, ERCP是有风险的操作, 必须严格掌握适应证, 术前要和患者沟通, 告知可能的危险和益处, 操作必须由经过训练的医师实施. 现阶段完全避免ERCP相关并发症是不现实的[15], 本次临床研究分析ERCP不会增加术后肝功能损害的风险, 安全有效, 值得临床进一步推广.

4 参考文献

1 于澜, 张抒, 黄德全, 杨一郇, 曹扬, 姚欣敏, 奚卫东. 腹腔镜联合术中胆道镜、十二指肠镜治疗胆囊结石并胆总管结石. 中国普外基础与临床杂志 2010; 17: 68-69

2 王广义, 王蒙, 吕国悦. 多镜联合治疗肝内外胆管结石. 中华消化外科杂志 2011; 10: 179-181

3 Cheng CL, Sherman S, Watkins JL, Barnett J, Freeman M, Geenen J, Ryan M, Parker H, Frakes JT, Fogel EL, Silverman WB, Dua KS, Aliperti G, Yakshe P, Uzer M, Jones W, Goff J, Lazzell-Pannell L, Rashdan A, Temkit M, Lehman GA. Risk factors for post-ERCP pancreatitis: a prospective multicenter study. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 139-147 [PMID: 16405547 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2006.00380.x]

4 缪林, 范志宁. ERCP并发症防治现状. 中国医疗器械信息 2009; 15: 15-17

5 Anderson DJ, Shimpi RA, McDonald JR, Branch MS, Kanafani ZA, Harger J, Ely TM, Sexton DJ, Kaye KS. Infectious complications following endoscopic retrograde cholangiopancreatography: an automated surveillance system for detecting postprocedure bacteremia. *Am J Infect Control* 2008; 36: 592-594 [PMID: 18926314 DOI: 10.1016/j.ajic.2007.10.023]

6 MA. Endoscopic retrograde cholangiopancreatography induced cholangitis in 17 cases. *China Journal of Endoscopy* 2008; 14: 669-670

7 李莉, 谭跃, 黎振林, 莫健莲. ERCP术后近期并发症及防治. 基层医学论坛 2012; 16: 2457-2461

8 Karsten TM, van Gulik TM, Spanjaard L, Bosma A, van der Bergh Weerman MA, Dingemans KP, Dankert J, Gouma DJ. Bacterial translocation from the biliary tract to blood and lymph in rats with obstructive jaundice. *J Surg Res* 1998; 74: 125-130 [PMID: 9587350 DOI: 10.1006/jsre.1997.5192]

9 姜双, 王志新, 刘艳秋, 王晓华, 于丽娟. 梗阻性黄疸肝细胞损伤机制研究现状. 医学综述 2006; 8: 343-344

10 Collier J, Bassendine M. How to respond to abnormal liver function tests. *Clin Med* 2002; 2: 406-409 [PMID: 12448585]

11 Kumar P, Clark M, eds. Clinical Medicine. 3rd edn. London: Bailliere Tindall, 1994

12 Haslett C, Chilvers ER, Boon NA, Colledge NR, Hunter JAA, eds. Davidson's Principles and Practice of Medicine. 19th edn. Edinburgh: Churchill Livingstone, 2002

13 Hayat JO, Loew CJ, Asrress KN, McIntyre AS, Gorard DA. Contrasting liver function test patterns in obstructive jaundice due to biliary strictures [corrected] and stones. *QJM* 2005; 98: 35-40 [PMID: 15625352 DOI: 10.1093/qjmed/hci038]

14 朱德鑫, 邵建国. ERCP在胆道疾病中的临床应用研究进展. 南通大学学报 2012; 32: 48-50

15 吴传良. ERCP常见并发症及防治策略. 医学研究杂志 2009; 38: 92-93

■同行评价
本文有一定的科学性, 对临床有很强的指导意义.

编辑 田滢 电编 闫晋利

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com

世界华人消化杂志 2013年6月28日; 21(18): 1776-1779
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

临床经验 CLINICAL PRACTICE

CT与B超在急性阑尾炎诊断和鉴别诊断中的应用价值

申 宏, 袁 菊, 洪 凡, 谢 翔, 卢晓明

■背景资料
急性阑尾炎、疑似阑尾炎与其他急腹症的诊断和鉴别诊断在阑尾炎早期诊治中是重中之重的事情. 选择一个快速、准确的诊断方法, 尽早明确诊断从而赢得有效治疗时间至关重要.

申宏, 袁菊, 洪凡, 谢翔, 湖北省钟祥市人民医院普外一科 湖北省钟祥市 431900
卢晓明, 华中科技大学同济医学院附属协和医院胃肠外科 湖北省武汉市 430022
申宏, 副主任医师, 主要从事普通外科的临床工作.
作者贡献分布: 此课题由申宏、袁菊及卢晓明设计; 研究过程由申宏、袁菊、洪凡及谢翔完成; 临床资料采集由申宏、袁菊及洪凡完成; 数据分析由洪凡与谢翔完成; 本文写作由申宏与袁菊完成.
通讯作者: 卢晓明, 教授, 430022, 湖北省武汉市解放大道1277号, 华中科技大学同济医学院附属协和医院胃肠外科.
luxiaoming_6287@163.com
收稿日期: 2013-03-28 修回日期: 2013-05-15
接受日期: 2013-05-19 在线出版日期: 2013-06-28

Diagnostic value of CT versus BUS in detection of acute appendicitis

Hong Shen, Ju Yuan, Fan Hong, Xiang Xie, Xiao-Ming Lu

Hong Shen, Ju Yuan, Fan Hong, Xiang Xie, Department of General Surgery, Zhongxiang People's Hospital, Zhongxiang 431900, Hubei Province, China
Xiao-Ming Lu, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China
Correspondence to: Xiao-Ming Lu, Professor, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 1277 Jiefang Dadao, Wuhan 430022, China. luxiaoming_6287@163.com
Received: 2013-03-28 Revised: 2013-05-15
Accepted: 2013-05-19 Published online: 2013-06-28

Abstract
AIM: To compare the diagnostic value of CT versus BUS in detection of acute appendicitis.

METHODS: Clinical data for 120 patients with pathologically verified acute appendicitis who underwent CT (n = 60) or BUS (n = 60) were retrospectively analyzed to compare the value of CT and BUS in diagnosis and differential diagnosis of this disease. The sensitivity of the two modalities in the diagnosis of acute appendicitis was compared.

RESULTS: The sensitivity of CT and BUS in the diagnosis of acute appendicitis was 93% and 60%, respectively. The diagnostic accuracy of CT for acute appendicitis was significantly better than that of BUS (P < 0.05). However, there was no significant difference in diagnostic accuracy between CT and BUS for other pathologic types of appendicitis.

CONCLUSION: CT should be the first choice for acute appendicitis, especially in patients with a negative BUS examination.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: CT; BUS; Acute appendicitis; Diagnosis; Differential diagnosis

Shen H, Yuan J, Hong F, Xie X, Lu XM. Diagnostic value of CT versus BUS in detection of acute appendicitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(18): 1776-1779 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1776.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i18.1776

摘要
目的: 比较CT和B超在急性阑尾炎诊断和鉴别诊断中的应用价值.

方法: 回顾性分析60例术后病理证实为急性阑尾炎患者的术前CT扫描征象, 了解CT在诊断急性阑尾炎中的灵敏度和诊断价值; 回顾性分析60例术后病理证实为急性阑尾炎患者的术前B超表现, 了解B超在诊断急性阑尾炎中的灵敏度和诊断价值. 比较两组的灵敏度差异是否具有统计学意义.

结果: CT和B超诊断急性阑尾炎的灵敏度分别为93%和60%, CT诊断价值明显优于B超(P<0.05), 两者的灵敏度差异主要体现在诊断急性单纯性阑尾炎时, 在诊断其他类型阑尾炎时没有明显差异.

结论: CT可以考虑作为诊断和鉴别诊断急性阑尾炎的首选检查, 特别是对B超检查提示阴性的病例, 建议行CT扫描进一步追溯.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: CT; B超; 急性阑尾炎; 诊断; 鉴别诊断

核心提示: 急性阑尾炎作为一种排他性诊断疾病,

■同行评议者
甘华田, 教授, 四川大学华西医院老年消化内科

需要与其他急腹症相鉴别, CT由于其快捷直观的影像学证据特点, 在灵敏度方面的比较性优势, 完全可以胜任这一重任, 可以考虑作为初诊为急性阑尾炎患者的首选辅助检查手段, 适合在大型综合性医院和基层医疗机构广泛开展. 特别是对B超检查提示阴性的病例, 建议行CT扫描进一步追溯.

申宏, 袁菊, 洪凡, 谢翔, 卢晓明. CT与B超在急性阑尾炎诊断和鉴别诊断中的应用价值. 世界华人消化杂志 2013; 21(18): 1776-1779 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1776.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i18.1776

0 引言

急性阑尾炎是临床上最常见的急腹症之一. 转移性右下腹疼痛、麦式点压痛反跳痛以及血象增高被认为是诊断急性阑尾炎的金标准. 然而, 一方面不典型的急性阑尾炎大多没有上述表现, 另一方面诸如胆囊坏疽穿孔、回盲部和升结肠肿瘤所致的肠道梗阻、急性胰腺炎、泌尿系结石以及妇科急症等其他急腹症同样也可以呈现出上述典型表现. 因此, 急性阑尾炎与其他急腹症的鉴别诊断在其早期诊治中是重中之重的事情. 选择一个快速、准确的诊断方法, 尽早明确诊断从而赢得有效治疗时间至关重要. 本文就CT和B超在急性阑尾炎诊断和鉴别诊断中的应用价值进行了初步探讨和比较分析.

1 材料和方法

1.1 *材料* 回顾性分析本院近两年初步诊断为急性阑尾炎病例60例, 这60例患者术前均行腹部CT扫描平扫, 术后均经过病理证实为急性阑尾炎. 其中男34例, 女26例, 患者平均年龄32岁(16-72岁). 对照组为本院近2年初步诊断为急性阑尾炎病例60例, 这60例患者术前均行腹部B超检查, 术后均经病理证实. 其中男32例, 女28例, 患者平均年龄35.5岁(18-80岁). 同时完成了CT扫描和B超检查的4例疑似急性阑尾炎患者纳入CT扫描组, 术前没有进行CT或B超检查, 单凭体格检查和实验室资料确诊为急性阑尾炎完成手术的患者为剔除对象, 不在本研究范围内.

1.2 *方法* 回顾性分析CT扫描组60例患者的术前CT征象, 并将CT征象与手术及病理结果进行对照, 计算灵敏度. 同样, 回顾性分析B超检查组60例患者的术前B超表现, 并将B超表现与术后病理结果进行对照, 计算灵敏度. 比较两组灵敏度和诊断准确率的差异是否具有统计学意义.

统计学处理 采用SPSS16.0对结果进行统计学分析, 两个样本率的比较采用χ^2检验.

2 结果

2.1 急性阑尾炎术前CT征象与术后病理学类型比较 CT组中术前CT阳性例数/术后病理阳性例数分别为: 单纯性阑尾炎29例/33例, 其中包括4例B超阴性而CT阳性患者, 化脓性阑尾炎22例/22例, 坏疽穿孔性阑尾炎3例/3例, 阑尾周围脓肿2例/2例, CT组中4例为阴性, 术后病理证实为单纯性阑尾炎. 其不同的CT征象与病理学类型比较见表1.

2.2 急性阑尾炎术前B超表现与病理学类型比较 B超组中术前B超阳性例数/术后病理阳性例数分别为: 单纯性阑尾炎11例/35例, 化脓性阑尾炎20例/20例, 坏疽穿孔性阑尾炎4例/4例, 阑尾周围脓肿1例/1例. 其不同的B超表现与病理学类型比较见表2.

2.3 CT与B超诊断急性阑尾炎的灵敏度比较 CT和B超诊断急性阑尾炎的灵敏度分别为93%和60%, 采用χ^2检验对两个率进行统计学分析, 结果提示χ^2 = 18.63, P<0.05. 进一步的细分发现, 两组的差异主要集中在单纯性急性阑尾炎病例, CT和B超诊断单纯性阑尾炎的灵敏度分别为85%和31%, χ^2 = 22.67, P<0.05. 这表明, CT诊断急性阑尾炎尤其是单纯性阑尾炎的灵敏度和准确率明显优于B超, 两者的差异具有显著的统计学意义(表3).

3 讨论

急性阑尾炎是急腹症的一种, 诊治过程中需要与其他急腹症相鉴别. 急腹症的表现大同小异, 大多数患者均表现为急性发作的腹痛腹胀, 但急腹症的病因却有数十种, 大致分为内科急腹症和外科急腹症两类, 处理方式各异. 因为种种原因, 目前在急性阑尾炎早期诊治中存在着一定的误诊误治率, 尤其是在老年肥胖患者、儿童和女性患者中, 临床上这方面血的教训和案例不胜枚举[1,2]. 选择一个快速、准确的诊断方法, 尽早鉴别诊断急腹症的病因[3], 明确急性阑尾炎的诊断并确定治疗方案, 是摆在临床外科医生面前的首要任务. 可疑急性阑尾炎影像学辅助检查中, 是首选CT还是B超, 目前还存在着争议, 不同作者的研究结果和倾向性也不同[4-8]. 急性阑尾炎作为急腹症的一种, 核心突出一个“急”字, 比较两者的诊断价值时, 检查的快捷准确性是最重要的一项衡量指标. Hernanz-Schulman[9]

■创新盘点

本文回顾性分析60例术后病理证实为急性阑尾炎患者的术前CT扫描征象, 以及60例术后病理证实为急性阑尾炎患者的术前B超表现, 比较了CT和B超在诊断急性阑尾炎中的灵敏度和诊断价值, 目前这方面的研究尚不多见.

■应用要点
本研究结论为CT在急性阑尾炎早期诊断和鉴别诊断中的应用提供了理论基础和实践经验.

表 1 急性阑尾炎术前CT征象与病理类型比较

病理类型	*n*	CT阳性(*n*)	CT征象
单纯性	33	29[1]	阑尾扩张增粗, 直径>6 mm. 阑尾壁水肿增厚, 多为环形均匀增厚, 可伴或不伴阑尾周围炎性渗出. 其中4例阑尾无明显异常或未见确切显示.
化脓性	22	22	阑尾明显增粗, 直径常>8 mm, 阑尾周围脂肪间隙模糊, 局部筋膜增厚, 条索状或絮状改变. 盲肠壁局部增厚并扩张积气, 阑尾腔内偶可见结石样高密度.
坏疽穿孔性	3	3	阑尾形态不规则, 周围边界不清密度欠均匀, 偶可见阑尾壁局部缺如. 阑尾周围或腹腔可见积气积液, 盆腔不同程度积液, 回盲部肠管常扩张并积气积液.
阑尾周围脓肿	2	2	回盲部不规则软组织肿物影, 软组织内积液或积气, 边界不清或部分包裹, 增强后边界强化, 可见条纹状密度增高影. 右侧腰大肌模糊. 盆腔可见积液.
合计	60	56	

[1]29例CT阳性例数中含4例B超检测提示阴性的病例. CT: 电子计算机断层扫描.

表 2 急性阑尾炎术前B超表现与病理类型比较

病理类型	*n*	B超阳性(*n*)	B超表现
单纯性	35	11	多数病例阑尾未见明显异常或确切显示, 阳性发现多提示阑尾增粗, 前后壁尚光滑完整, 部分根部可见粪石样强光点或强光团回声, 常伴有明显声影.
化脓性	20	20	阑尾明显肿大, 管径明显增宽, 管壁水肿增厚, 浆膜层回声模糊不连续, 腔内出现点状强回声, 有时可见粪石. 阑尾系膜多增厚, 周围可探及条带状液性暗区.
坏疽穿孔性	4	4	阑尾区可见边界不清的低回声团块, 内部回声杂乱, 阑尾多数显示不清. 周边欠清晰,肠管常扩张积气, 肠壁层次不清且增厚,肠间及腹盆腔常可见不同程度的积液.
阑尾周围脓肿	1	1	回盲区探及不规则的混合性包块, 内部回声不均匀, 呈片状或团块状强回声. 有时在右髂窝及右侧腰背部可探及巨大皮下蜂窝织炎和液性暗区. 阑尾本身常显示不清.
合计	60	36	

表 3 CT与B超诊断急性阑尾炎的灵敏度比较

分组	阳性(*n*)	阴性(*n*)	合计 (*n*)	灵敏度(%)
CT组	56	4	60	93
B超组	36	24	60	60
合计	92	28	120	76.7

$\chi^2 = 18.63$, $P<0.05$.

从检查的准确率、性价比、方便快捷性和是否有创等方面对两者的诊断价值进行了比较, 结果提示CT在诊断急性阑尾炎的准确率、总体性价方面明显优于B超.

腹部的脏器从形态学角度, 大致可以分为实质性脏器、空腔脏器和淋巴血管组织. CT扫描对于腹部实质性脏器评估具有绝对的优势, 对于腹部空腔脏器而言, 内镜检查固然重要, 但是对于疑似空腔脏器相关的急腹症患者行内镜检查显然是不恰当的. 相比较B超等, CT的优势在于可以迅速准确的发现或者排除, 诸如胃肠道穿孔、阑尾坏疽穿孔、绞窄性肠梗阻、肠扭转、胆囊坏疽和腹内嵌顿疝等亟须急诊手术干预的空腔脏器相关的急腹症[10,11]. 对于一个需要在短时间内明确病因决定治疗方案的急腹症患者而言这已经足够. CT对腹主动脉瘤或夹层、肠系膜上动静脉血栓形成和小儿肠系膜淋巴结炎等相关急腹症也要良好的提示. 现有研究提示CT在急腹症病因诊断中的准确率高达95%以上[12], CT诊断急性阑尾炎的灵敏度高达100%[13]. 64层螺旋CT拥有超快速大范围的高分辨率的容积扫描能力, 这在急诊工作中尤为重要. 可以在一次屏气的情况下进行从头到脚的扫描, 显著缩短了扫描时间, 并减少了因呼吸或胃肠蠕动产生的运动性伪影, 尽可能缩短了患者在影像科的滞留时间, 这对及时处理急症和挽救患者生命具有重要意义. 容积扫描没有跳层现象和数据遗漏, 减少了病变漏诊机会. CT阴性发现同样重要, 因为他初步排除了一些需要紧急手术的疾病, 缩小了诊断的范围, 为下一步的诊断和检查方向提供了线索, 赢得了时间.

B超的优势在于简单快捷, 可以床旁完成, 费用相对低廉, 另外不像CT对医患均存在射线暴露风险. 但B超受检查者本身的水平和经验影响较大, 其分辨力有限, 且易受肠腔内气体干扰. 除

了观察阑尾外, 如果还需要与其他急腹症相鉴别, B超无论是在准确率还是方便快捷性能等方面均不如CT. 所以腹部的大部分区域难以超声检查来准确评价. B超检查中为了提高阳性发现率, 常需要加压完成, 疼痛敏感患者和儿童常不能很好配合完成. 单就检查本身而言, B超费用低于CT, 不过CT因为其较高的诊断准确率及其对治疗方案的影响, 从而使患者的误诊误治率和整个住院费用较前者明显降低, B超诊断急性阑尾炎的总体性价比反而不如CT[14]. 本研究中CT扫描组有4例患者术前已行腹部B超检查均提示为阴性, 进一步CT扫描则提示为阑尾周围渗出、阑尾增大和盲肠周围脂肪间隙模糊等不同程度的阳性发现, 术后病理均提示为单纯性急性阑尾炎.

本文回顾性分析比较了本院近2年60例经术后病理证实为急性阑尾炎患者的术前CT征象, 以及60例经术后病理证实为急性阑尾炎患者的术前B超表现, 结果与Reich等[15]的研究结果类似, 两者的灵敏度分别为93%和60%. 这表明, CT在急性阑尾炎中的诊断价值明显优于B超, 尤其是在应用于诊断单纯性急性阑尾炎患者, 两组的差异具有显著的统计学意义. 总之, 急性阑尾炎作为一种排他性诊断疾病, 需要与其他急腹症相鉴别, CT由于其快捷直观的影像学证据特点, 在灵敏度方面的比较性优势, 完全可以胜任这一重任, 可以考虑作为初诊为急性阑尾炎患者的首选辅助检查手段, 适合在大型综合性医院和基层医疗机构广泛开展. 特别是对B超检查提示阴性的病例, 建议行CT扫描进一步追溯.

4 参考文献

1 刘勇. 基层医院急性阑尾炎误诊分析. 检验医学与临床 2012; 9: 255-256
2 洪顺发, 黄自在, 叶得龙, 谢中金, 刘铁毅. 阑尾炎误诊分析. 中国医药科学 2012; 2: 170-171
3 Billington P, Khan SH, Lapsia S. Radiology of the acute abdomen. *Br J Hosp Med* (Lond) 2011; 72: M124-M127 [PMID: 21841582]
4 O'Leary DP, Redmond HP, Andrews EJ. Low-dose abdominal CT for diagnosing appendicitis. *N Engl J Med* 2012; 367: 478; author reply 478-479 [PMID: 22853027]
5 Lopez PP, Cohn SM. CT scanning in the management of acute appendicitis. *J Am Coll Surg* 2010; 211: 567; author reply 567 [PMID: 20868979 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2010.06.112]
6 Al-Ajerami Y. Sensitivity and specificity of ultrasound in the diagnosis of acute appendicitis. *East Mediterr Health J* 2012; 18: 66-69 [PMID: 22360013]
7 Sezer TO, Gulece B, Zalluhoglu N, Gorgun M, Dogan S. Diagnostic value of ultrasonography in appendicitis. *Adv Clin Exp Med* 2012; 21: 633-636 [PMID: 23356200]
8 Bretagnol F, Zappa M, Panis Y. [Ultrasound and CT imaging in the diagnosis of acute appendicitis]. *J Chir* (Paris) 2009; 146: 8-11 [PMID: 19846096 DOI: 10.1016/j.jchir.2009.08.002]
9 Hernanz-Schulman M. CT and US in the diagnosis of appendicitis: an argument for CT. *Radiology* 2010; 255: 3-7 [PMID: 20308436 DOI: 10.1148/radiol.09091211]
10 Weir-McCall J, Shaw A, Arya A, Knight A, Howlett DC. The use of pre-operative computed tomography in the assessment of the acute abdomen. *Ann R Coll Surg Engl* 2012; 94: 102-107 [PMID: 22391377 DOI: 10.1308/003588412X13171221501663]
11 Nguyen LK, Wong DD, Fatovich DM, Yeung JM, Persaud J, Wood CJ, de Vos D, Mendelson RM. Low-dose computed tomography versus plain abdominal radiography in the investigation of an acute abdomen. *ANZ J Surg* 2012; 82: 36-41 [PMID: 22507493 DOI: 10.1111/j.1445-2197.2010.05632.x]
12 Taourel P, Baron MP, Pradel J, Fabre JM, Seneterre E, Bruel JM. Acute abdomen of unknown origin: impact of CT on diagnosis and management. *Gastrointest Radiol* 1992; 17: 287-291 [PMID: 1426841 DOI: 10.1007/BF01888571]
13 Poortman P, Oostvogel HJ, Bosma E, Lohle PN, Cuesta MA, de Lange-de Klerk ES, Hamming JF. Improving diagnosis of acute appendicitis: results of a diagnostic pathway with standard use of ultrasonography followed by selective use of CT. *J Am Coll Surg* 2009; 208: 434-441 [PMID: 19318006 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2008.12.003]
14 Peña BM, Taylor GA, Fishman SJ, Mandl KD. Costs and effectiveness of ultrasonography and limited computed tomography for diagnosing appendicitis in children. *Pediatrics* 2000; 106: 672-676 [PMID: 11015507 DOI: 10.1542/peds.106.4.672]
15 Reich B, Zalut T, Weiner SG. An international evaluation of ultrasound vs. computed tomography in the diagnosis of appendicitis. *Int J Emerg Med* 2011; 4: 68 [PMID: 22035447 DOI: 10.1186/1865-1380-4-68]

■同行评价

本文新颖新好, 设计合理, 条理清楚, 证据较充足, 结论较明确, 对临床有一定的指导意义.

编辑 田滢 电编 闫晋利

世界华人消化杂志 2013年6月28日; 21(18): 1780-1784
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

蒲地蓝消炎口服液联合三联药物根除幽门螺杆菌63例

刘华一, 张 滨, 姜立根

■背景资料
幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)可导致慢性胃炎、消化性溃疡、胃癌等多种疾病, 因此成功根除*H. pylori*感染具有非常重要的意义. 目前临床上多采用标准的三联药物进行治疗, 但随着抗生素滥用, *H. pylori*的根除率却逐年降低. 因此, 寻找提高*H. pylori*根除率的药物迫在眉睫.

刘华一, 张滨, 姜立根, 天津市中医药研究院附属医院 天津市 300120
刘华一, 主任医师, 研究员, 主要从事慢性胃炎及功能性消化不良的研究.
作者贡献分布: 本课题由刘华一设计; 研究过程由刘华一、张滨及姜立根共同完成.
通讯作者: 刘华一, 主任医师, 研究员, 300120, 天津市红桥区北马路354号, 天津市中医药研究院附属医院.
liuhuayi66@yahoo.com.cn
收稿日期: 2013-04-08 修回日期: 2013-04-24
接受日期: 2013-05-25 在线出版日期: 2013-06-28

Clinical efficacy of Pudilan Oral Solution combined with triple therapy in eradicating *Helicobacter pylori*

Hua-Yi Liu, Bin Zhang, Li-Gen Jiang

Hua-Yi Liu, Bin Zhang, Li-Gen Jiang, Affiliated Hospital of Tianjin Academy of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300120, China
Correspondence to: Hua-Yi Liu, Chief Physician, Affiliated Hospital of Tianjin Academy of Traditional Chinese Medicine, 354 Beima Road, Hongqiao District, Tianjin 300120, China. liuhuayi66@yahoo.com.cn
Received: 2013-04-08 Revised: 2013-04-24
Accepted: 2013-05-25 Published online: 2013-06-28

Abstract

AIM: To assess the clinic efficacy of Pudilan Oral Solution combined with triple therapy (rabeprazole sodium, clarithromycin and levofloxacin hydrochloride) in eradicating *Helicobacter pylori* (*H. pylori*).

METHODS: One hundred and twenty-nine patients who were diagnosed with *H. pylori* infection by rapid urease test or ^{14}C breath test from April 2012 to February 2013 were included in this study and randomly divided into either a control group or a treatment group. The control group was orally given 10 mg of rabeprazole sodium enteric-coated capsules, twice daily, 500 mg of clarithromycin extended-release tablets, twice daily, and 0.4 g of levofloxacin hydrochloride tablets, twice daily. The treatment group was additionally given 10 mL of Pudilan Oral Solution, twice daily. The patients in both groups were treated for 14 d. Clinical efficacy was assessed 30 d after the end of treatment.

RESULTS: Both intention-to-treat (ITT) analysis and per-protocol (PP) analysis revealed that the rates of *H. pylori* eradication were significantly higher in the combination group than in the control group (ITT: 71.4% *vs* 51.5%; PP: 73.8% *vs* 55.7%, both $P < 0.05$). The rate of symptom improvement was also significantly higher in the treatment group than in the control group, although there was no significant difference in the incidence of adverse events between the two groups.

CONCLUSION: Pudilan Oral Solution combined with triple therapy has significantly higher rates of *H. pylori* eradication and clinical symptom improvement than triple therapy alone, although there is no significant difference in the incidence of adverse events between the two therapies.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Triple therapy; Pudilan Oral Solution

Liu HY, Zhang B, Jiang LG. Clinical efficacy of Pudilan Oral Solution combined with triple therapy in eradicating *Helicobacter pylori*. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(18): 1780-1784 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1780.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i18.1780

摘要

目的: 探讨蒲地蓝消炎口服液联合雷贝拉唑钠肠溶胶囊, 克拉霉素缓释片, 盐酸左氧氟沙星片联合用蒲地蓝消炎口服液根除幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)的临床疗效.

方法: 通过筛选自2012-04/2013-03经电子胃镜的快速尿素酶试验或^{14}C呼气试验检验为*H. pylori*感染阳性的门诊患者, 共观察129例, 随机分为对照组和治疗组. 对照组予雷贝拉唑钠肠溶胶囊10 mg, 2次/d, 口服, 克拉霉素缓释片500 mg, 2次/d, 口服, 盐酸左氧氟沙星片0.4 g, 2次/d, 口服. 治疗组加用蒲地蓝消炎口服液10 mL, 2次/d, 口服. 疗程共14 d, 停药30 d后,

■同行评议者
牛英才, 研究员, 齐齐哈尔医学院医药科学研究所; 沈克平, 主任医师, 上海中医药大学附属龙华医院

评估两组疗效.

结果: 按意向性分析(intention-to-treat)和符合治疗方案分析(per-protocol)三联疗法联合蒲地蓝消炎口服液组和对照组*H. pylori*根除率分别为71.4%、73.8%和51.5%、55.7%. 两组比较差异有统计学意义. 症状改善方面, 治疗组明显高于对照组. 不良反应发生方面两组间差异无统计学意义.

结论: 蒲地蓝消炎口服液联合三联药物根除*H. pylori*效果明显, 提高症状改善率, 不增加不良反应的发生, 值得临床推广.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 幽门螺杆菌; 三联药物; 蒲地蓝

核心提示: 清热解毒类中药-蒲地蓝消炎口服液联合三联药物治疗幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染, 意向性分析(intention-to-treat)分析表明*H. pylori*根除率为71.4%, 符合治疗方案分析(per-protocol)分析表明*H. pylori*根除率为73.8%, 显著高于传统三联疗法, 患者临床症状得到明显改善, 无显著不良反应, 值得在临床上推广使用.

刘华一, 张滨, 姜立根. 蒲地蓝消炎口服液联合三联药物根除幽门螺杆菌63例. 世界华人消化杂志 2013; 21(18): 1780-1784
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1780.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i18.1780

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是目前胃内存在的唯一一种细菌, 经研究发现*H. pylori*的存在可以导致多种疾病, 如慢性胃炎、消化性溃疡、胃黏膜相关性淋巴样组织淋巴瘤、胃癌等相关消化系统疾病, 特发性血小板减少性紫癜、不明原因缺铁性贫血、冠心病等消化系统外疾病相关[1,2]. 另外刘青峰等[3]报道*H. pylori*感染可能还与酒渣鼻、慢性荨麻疹、血管神经性水肿等皮肤疾病有关. 成功根除*H. pylori*具有重要的临床意义. 现在临床上多采用标准的三联药物根除*H. pylori*[2,4], 随着抗生素的广泛应用, *H. pylori*根除率逐年降低[2,4], 抗生素的使用也越来越严格, 寻找能够提高*H. pylori*根除率的药物和方法是当前的选择. 现代药理研究表明中药蒲公英、苦地丁、板蓝根、黄连、黄芩、大黄等清热解毒燥湿药具有杀菌或抑菌的作用[5]. 蒲地蓝口服液以蒲公英、地丁、板蓝根、黄芩等清热解毒药为主要成分, 具有一定的清热解毒、消肿止痛的作用, 可能具有提高根治*H. pylori*的作用.

1 材料和方法

1.1 材料 选择天津市中医药研究院附属医院2012-04/2013-03经电子胃镜中快速尿素酶试验、胃黏膜病理学检查或^{14}C呼气试验诊断*H. pylori*感染的门诊患者129例, 进行临床治疗观察. 采用SPSS11.5统计软件进行随机分组, 分为治疗组和对照组. 试验中无安慰剂, 患者和临床医师均不设盲. ^{14}C呼气试验仪器型号: 尿素^{14}C呼气试验药盒(插卡式), ^{14}C呼气试验*H. pylori*检测仪(仪器型号: HUBT-20A), 呼气试验药盒及检测仪均由深圳市中核海得威生物科技有限公司; 快速尿素酶检验试剂盒由福建三强化工有限公司生产. 蒲地蓝消炎口服液, 江苏济川制药有限公司提供(产品批号: 120107-1, 国药准字: Z20030095); 克拉霉素缓释片(商品名: 诺邦)江苏恒瑞医药股份有限公司生产; 雷贝拉唑钠肠溶胶囊胶囊(商品名: 济诺), 江苏济川制药有限公司生产; 盐酸左氧氟沙星片(商品名乐朗), 江苏恒瑞医药股份有限公司生产.

1.2 方法

1.2.1 诊断标准: (1)主要采用^{14}C呼气试验法UBT数值>100者确诊*H. pylori*感染的阳性患者; (2)依据电子胃镜中快速尿素酶试验阳性的患者; (3)患者电子胃镜中快速尿素酶试验阴性, 但胃黏膜病理检查显示*H. pylori*阳性.

1.2.2 纳入标准: (1)符合*H. pylori*感染诊断的患者; (2)患有消化系统疾病, 需根除*H. pylori*的患者; (3)患有湿疹等相关疾病, 需根除*H. pylori*的患者; (4)体检查出*H. pylori*感染, 无明显不适, 但个人要求根除*H. pylori*感染的健康者.

1.2.3 排除标准: (1)伴随心肝肾等严重疾病的患者; (2)半月前服用过PPI、H2受体拮抗剂、铋剂、抗生素的患者; (3)妊娠或哺乳的患者; (4)有本次实验中所用相关药物过敏史的患者. 纳入病例包括慢性胃炎、胃溃疡、十二指肠溃疡等消化系统疾病及湿疹等非消化系统疾病, 健康体检者. *H. pylori*根除治疗中, 湿疹等疾病由相关科室临床医生确诊, 慢性胃炎、消化性溃疡由胃镜等相关检测确诊.

1.2.4 患者的选择: 试验中, 首先采用SPSS11.5统计软件产生随机数字表, 依据患者的入组顺序进行编号. 每个号码均对应相应的治疗方案. *H. pylori*感染但此时不适合进行*H. pylori*根除治疗或拒绝入组的患者无编号, 治疗无论是否与本

■研发前沿
随着*H. pylori*耐药率的逐年增加, 目前很多学者通过改进传统三联或四联药物、使用中药、联合益生菌等方法来提高*H. pylori*根除率, 取得了一定的疗效, 但是这些方法仍有一定的缺陷, 例如西药疗法不良反应较大, 中药疗法提高*H. pylori*根除率不甚显著等.

■相关报道
Veronica等报道罗伊氏乳杆菌与三联药物同服可提高*H. pylori*根除率; 贾春玲等表明*H. pylori*治疗后进行口腔护理可明显降低*H. pylori*复发率; 朴雪花等报道自拟中药复方联合三联药物治疗可提高*H. pylori*感染的根除率; 刘志为等采用自拟中药复方联合四联药物作为*H. pylori*补救治疗效果较好.

■创新盛点
本研究首次将蒲地蓝口服液联合三联药物对*H. pylori*感染进行治疗，现代药理研究表明该药中的蒲公英、苦地丁、板蓝根、黄连、黄芩、大黄等成分具有清热解毒、燥湿、杀菌抑菌的作用，因此采用该药联用三联药物可能具有提高*H. pylori*根除率的作用.

表 1 试验组与对照组一般情况的比较

	治疗组	对照组	χ^2值(*t*值)	*P*值
意向性分析				
性别(男/女)	28/35	31/35	0.08	0.77
年龄(岁)	51.7±13.0	51.8±11.5	0.49	0.63
既往杀菌人次(已杀菌/未杀菌)	35/41	30/42	0.29	0.59
符合治疗方案分析				
性别(男/女)	27/34	29/32	0.13	0.72
年龄(岁)	50.6±13.2	51.4±11.6	0.36	0.72
既往杀菌人次(已杀菌/未杀菌)	31/41	28/39	0.02	0.88

既往杀菌人数次是指，根除*H. pylori*治疗失败加入本次实验患者，记录中依据患者杀菌次数，并进行相应的加和，并不代表根除*H. pylori*失败的具体人数. *H. pylori*: 幽门螺杆菌.

试验相同，均不进行统计.

1.2.5 *失访*: 所有病例均在首诊时保留手机号码. 采用电话回访的方式进行随访. 未能及时复诊、未按规定服用相关药物或电话无法接通且未复诊的患者判定为失访的患者.

1.2.6 *治疗方案*: 对照组雷贝拉唑钠肠溶胶囊10 mg，2次/d口服，克拉霉素缓释片500 mg，2次/d，口服，盐酸左氧氟沙星片0.4 g，2次/d，口服. 治疗组加用蒲地蓝消炎口服液10 mL，2次/d，口服. 疗程14 d.

1.2.7 *H. pylori根除、疗效评价及不良反应评价*: 停药30 d后，应用^{14}C呼气试验复查，记录UBT值，UBT数值<100为根除，UBT数值≥100者未根除. 临床症状的判定: 在治疗开始和治疗结束时对患者的临床症状进行评分，其中按症状出现的无、轻、中、重分别记0、1、2、3. 疗效判定等级: 显效: 症状总积分减少>75%，有效: 症状总积分减少50%-75%，无效: 症状总积分减少<50%. 不良反应由临床医生根据临床经验(对比治疗前后临床症状及相关药物常见不良反应)判断，药物性皮疹等疾病须由相关科室医生协助诊断.

统计学处理 采用SPSS11.5统计软件进行分析. 计量资料以mean±SD表示，采用*t*检验，计数资料采用四格表χ^2检验，等级资料采用秩和检验. 均采用双侧检验，*P*<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 *一般情况* 截止到2013-03-08收集病例129例，治疗组63例，对照组66例. 其中122例患者资料完整，治疗组61例，对照组61例. 失访7例，治疗组2例，对照组5例. 两组患者在年龄、性别、既往杀菌情况等方面均无统计学差异，具有可比性. 以上患者资料均包括意向性分析(intention-to-treat, ITT)和符合治疗方案分析(per-protocol, PP)(表1). 患者包括慢性胃炎、胃溃疡. 十二指肠溃疡、慢性湿疹、荨麻疹及无明显不适但体检出现*H. pylori*感染且要求根除*H. pylori*者，其中慢性胃炎患者108例.

2.2 *H. pylori根除率* 治疗组患者成功根除45例，对照组患者成功根除34例，根据ITT分析治疗组根除率71.4%，对照组根除率51.5%，PP分析治疗组根除率73.8%，对照组根除率55.7%. ITT和PP分析中，两组间比较均具有统计学差异(*P*<0.05)(表2).

2.3 *临床疗效比较* 治疗结束时，治疗组临床症状显效38例，有效14例，无效10例. 对照组临床症状显效26例，有效18例，无效17例. 两组比较临床症状改善差异有统计学意义(u = 2.27，*P*<0.05)(表3).

2.4 *失访情况* 本次试验共有7例患者失访，治疗组2例，对照组5例. 2例患者因出现不适症状而自行停药，其余患者自觉症状改善或消失，拒绝复查.

2.5 *不良反应发生情况* 试验中，未出现明显临床症状的不良反应而停药. 对照组患者因出现不良反应(分别为便秘、口苦)而自行停药. 两组中患者未出现其他导致停药的不良反应. 根据患者出现不良反应的种类进行统计，并进行统计学检验，两组间无统计学差异(*P*>0.05)(表4).

3 讨论

自1983年澳大利亚学者Warren和Marshall在人胃

表 2 两组间幽门螺杆菌根除率的比较 (*n*)

	根除成功	根除失败	χ^2值	*P*值
意向性分析				
治疗组	45	18	5.39	0.02
对照组	34	32		
符合治疗方案分析				
治疗组	45	16	4.35	0.04
对照组	34	27		

表 3 两组间症状改善情况比较 (*n*)

	显效	有效	无效
试验组	38	14	10
对照组	26	18	17
*U*值		2.27	
*P*值		0.23	

表 4 两组间不良反应发生情况比较 (*n*)

不良反应发生种类	0种	1种	2种及以上
治疗组	31	26	4
对照组	35	21	5
*U*值		0.56	
*P*值		0.57	

黏膜组织中发现并分离出*H. pylori*以来, 人们发现*H. pylori*与人类胃炎、消化性溃疡、胃癌等疾病的发生发展相关, 根除*H. pylori*在消化病病的治疗中有着重要的意义. 随着*H. pylori*根除治疗的广泛应用, *H. pylori*的耐药率逐年提高, 提高*H. pylori*根除率是临床医师的必然选择. 很多学者提出提高*H. pylori*根除方法[6,7]: 改进传统的三联或者四联疗法; 使用中药治疗; 联合益生菌治疗; 联合口腔洁治疗等相关方案. Ojetti等[8]报道, 罗伊氏乳杆菌与三联药物同时服用治疗成人*H. pylori*感染, 可提高*H. pylori*根除率, 减少不良反应的发生. Du等[9]将嗜酸乳杆菌作为佐剂在*H. pylori*根除治疗前服用2 wk或治疗后服用2 wk, 与单纯三联治疗比较, 无论在*H. pylori*根除治疗前或治疗后服用嗜酸乳杆菌均可提高*H. pylori*根除率, 减少不良反应的发生. 贾春玲等[10]研究*H. pylori*根除治疗后, 日常口腔护理加牙菌斑专业护理治疗, 可明显降低*H. pylori*的复发率(但本研究中无论是否采用口腔护理, 患者的*H. pylori*复发率均较高). 刘壮等[11]研究发现清除牙菌斑可提高消化性溃疡患者*H. pylori*根除率. 中药治疗*H. pylori*感染研究包括: 采用自拟中药复方治疗*H. pylori*感染, 中成药治疗*H. pylori*感染, 单味中药治疗*H. pylori*感染的试验研究等. 朴雪花等[12]、曹建雄等[13]报道自拟中药复方联合三联药物治疗*H. pylori*感染可提高*H. pylori*感染的根除率. 刘志为[14]采用自拟中药复方联合四联药物作为*H. pylori*的补救治疗, *H. pylori*根除率和不良反应发生率方面均优于对照组. 董欣红等[15]研究三九胃泰联合雷尼替丁三联药物治疗*H. pylori*感染, 三九胃泰雷尼替丁三联与雷尼替丁三联加铋剂的*H. pylori*根除率相同. 韩玉山等[16]比较荆花胃康胶丸三联治疗*H. pylori*感染的慢性胃炎多中心、随机、双盲、对照研究, 荆花胃康三联与标准三联的*H. pylori*根除率无明显差异, 且不良反应发生率较低. 自拟中药或中成药治疗*H. pylori*感染多取得与铋剂类似的临床疗效, 且临床不良反应发生率较低. 清热解毒类单味中药在抗*H. pylori*方面效果显著, 如蒲公英、板蓝根、黄连、黄芩、大黄等. 刘生杰等[17]研究中药荆花胃康、银花、苦参等都有一定的体外抑制*H. pylori*效果, 作用弱于阿莫西林. 王建平等[18]采用小鼠感染模型研究单味中药治疗*H. pylori*感染, 发现黄芩、黄连、大黄、阿莫西林都具有较好的*H. pylori*杀菌效果. 中药在*H. pylori*感染具有一定的临床疗效.

蒲地蓝消炎口服液由蒲公英、板蓝根、苦地丁、黄芩四味药物组成, 组方中蒲公英、黄芩具有清热燥湿的作用. 本草新编载蒲公英“可泻胃火而不伤土”; 现代医家洪广祥也指出“蒲公英有苦泻而不伤正, 清热而不伤胃的特点”, “治胃痛寒热均用”[19]. 现代医学研究也证明蒲公英、黄芩具有直接抑杀*H. pylori*的作用[20,21], 此外蒲地蓝消炎口服液能增加白细胞的数目, 提高白细胞的吞噬能力, 升高淋巴细胞转化率而增强机体特异性免疫功能和细胞免疫功能, 达到间接抑杀*H. pylori*的作用[22].

本次试验中收集病例129例, 完成病例122

■应用要点

本研究采用蒲地蓝消炎口服液联合三联药物对*H. pylori*感染进行治疗, 相比较单用三联药物, 意向性分析(intention-to-treat)和符合治疗方案分析(per-protocol)分析均表明该法对*H. pylori*的杀菌率明显提高, 同时患者的临床症状明显改善, 而不良反应尚未增加, 值得进一步研究, 并在临床上推广使用.

■同行评价
本文设计合理, 研究结果支持研究结论, 对临床用药具有一定的参考价值.

例. 通过比较服用蒲地蓝消炎口服液后, *H. pylori*的杀菌率明显提高, 具有统计学差异. 患者临床症状改善明显, 未增加患者的不良反应. 蒲地蓝消炎口服液联合三联药物根除*H. pylori*效果明显, 临床症状明显缓解, 无明显不良反应, 值得进一步研究, 并在临床上推广使用.

4 参考文献

1 李颖, 顾国龙. 幽门螺杆菌感染与临床相关疾病的研究进展. 检验医学与临床 2011; 8: 2251-2252
2 Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA, Atherton J, Axon AT, Bazzoli F, Gensini GF, Gisbert JP, Graham DY, Rokkas T, El-Omar EM, Kuipers EJ. Management of Helicobacter pylori infection--the Maastricht IV/ Florence Consensus Report. *Gut* 2012; 61: 646-664 [PMID: 22491499 DOI: 10.1136/gutjnl-2012-302084]
3 刘青峰, 曾抗. 幽门螺旋杆菌致免疫应答及与皮肤病的关系. 皮肤性病诊疗学杂志 2010; 17: 315-317
4 刘文忠, 谢勇, 成虹, 吕农华, 胡伏莲, 张万岱, 周丽雅, 陈烨, 曾志荣, 王崇文, 萧树东, 潘国宗, 胡品津. 第四次全国幽门螺杆菌感染处理共识报告. 胃肠病学 2012; 17: 618-625
5 杜平华, 朱世真, 吕品. 20种中药材对幽门螺杆菌体外抗菌活性的研究. 中药材 2001; 24: 188-189
6 张万岱. 中西医结合提高幽门螺杆菌根除率的探讨. 医学与哲学 2012; 34: 12-13
7 胡伏莲. 幽门螺杆菌感染治疗现状与展望. 胃肠病学和肝病学杂志 2012; 21: 687-690
8 Ojetti V, Bruno G, Ainora ME, Gigante G, Rizzo G, Roccarina D, Gasbarrini A. Impact of Lactobacillus reuteri Supplementation on Anti-Helicobacter pylori Levofloxacin-Based Second-Line Therapy. *Gastroenterol Res Pract* 2012; 2012: 740381 [PMID: 22690211 DOI: 10.1155/2012/740381]
9 Du YQ, Su T, Fan JG, Lu YX, Zheng P, Li XH, Guo CY, Xu P, Gong YF, Li ZS. Adjuvant probiotics improve the eradication effect of triple therapy for Helicobacter pylori infection. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 6302-6307 [PMID: 23180952 DOI: 10.3748/wjg.v18.i43.6302]
10 贾春玲, 姜广水, 杨学馨, 窦慧琴, 李翠荣. 2种牙菌斑控制法对胃黏膜幽门螺杆菌再感染的影响研究. 华西口腔医学杂志 2009; 27: 172-174
11 刘壮, 孟卫东, 王占魁. 牙菌斑对消化性溃疡患者幽门螺杆菌根除率的影响. 中国误诊学杂志 2012; 12: 1038
12 朴雪花, 刘宝海. 疏肝消痞方结合三联疗法治疗幽门螺杆菌相关功能性消化不良的疗效研究. 中国全科医学 2012; 15: 2961-2962, 2965
13 曹建雄, 伍群业. 愈疡要方配合奥克三联疗法治疗幽门螺杆菌相关性消化性溃疡36例临床观察. 新中医 2005; 37: 34-35
14 刘志为. 四联疗法联合中医药对幽门螺杆菌的补救治疗. 胃肠病学和肝病学杂志 2012; 21: 715-718
15 董欣红, 胡伏莲, 李世荣, 杨昭徐, 叶剑雄, 王世鑫, 张平. 三九胃泰四联疗法治疗消化性溃疡及根除幽门螺杆菌的多中心临床研究. 中国新药杂志 2002; 11: 476-479
16 韩玉山, 杨强, 王东旭, 张志广, 张国梁, 曹泽伟, 文君. 荆花胃康三联疗法治疗幽门螺杆菌阳性慢性胃炎临床疗效的多中心随机双盲临床研究. 中国全科医学 2011; 14: 3639-3642
17 刘生杰, 梁浩, 罗燕萍, 张有江. 中西药体外抑制幽门螺杆菌效果观察. 中国病原生物学杂志 2011; 6: 115-117
18 王建平, 彭孝纬. 单味中药治疗幽门螺杆菌的动物研究. 胃肠病学和肝病学杂志 2010; 19: 345-347.
19 洪广祥. 蒲公英有抗衰老等作用. 中医杂志 1992; 33: 5
20 胡伟, 王红, 程丽, 周曾芬, 李晓燕, 陈娅蓉, 蒋海燕, 贾友兰. 蒲公英对幽门螺杆菌体外抑菌作用的实验研究. 胃肠病学 2006; 11: 365-366
21 吴静, 胡东, 王克霞. 黄芩和黄芩苷对幽门螺杆菌的体外抗菌活性研究. 中药材 2008; 31: 707-710
22 刘冠岐, 朱方石. 中医药对幽门螺杆菌抑制作用的研究进展. 实用中西医结合临床 2011; 9: 89-91

编辑 田滢 电编 闫晋利

世界华人消化杂志®
wcjd@wjgnet.com
世界华人消化杂志 2013年6月28日; 21(18): 1785-1788
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

病例报告 CASE REPORT

以“幽门梗阻、肠梗阻、腹水”为表现的嗜酸粒细胞性胃肠炎1例

王宁宁, 李异玲, 孙明军

王宁宁, 李异玲, 孙明军, 中国医科大学附属第一医院消化内科 辽宁省沈阳市 110001
王宁宁, 主要从事炎症性肠病的相关研究.
作者贡献分布: 本文写作由王宁宁完成; 李异玲与孙明军协助修改.
通讯作者: 孙明军, 教授, 主任医师, 110001, 辽宁省沈阳市和平区南京北街155号, 中国医科大学附属第一医院消化内科. smjwm@sina.com
电话: 024-83282563
收稿日期: 2013-03-17 修回日期: 2013-04-09
接受日期: 2013-04-27 在线出版日期: 2013-06-28

Eosinophilic gastroenteritis manifesting as pyloric obstruction, intestinal obstruction and ascites: A case report

Ning-Ning Wang, Yi-Ling Li, Ming-Jun Sun

Ning-Ning Wang, Yi-Ling Li, Ming-Jun Sun, Department of Gastroenterology, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China
Correspondence to: Ming-Jun Sun, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Hospital of China Medical University, 155 Nanjing North Street, Heping District, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. smjwm@sina.com
Received: 2013-03-17 Revised: 2013-04-09
Accepted: 2013-04-27 Published online: 2013-06-28

Abstract

Eosinophilic gastroenteritis (EG) is a rare disease of unknown cause, characterized by peripheral eosinophilia, eosinophilic infiltration and edema of the gastrointestinal tract. Here we report a case of eosinophilic gastroenteritis manifesting as pyloric obstruction, intestinal obstruction and ascites. A 33-year-old male patient presented with a chief complaint of heartburn and eructation for 3 years, abdominal pain and diarrhea for 2 years, and abdominal distension for 1.5 years. He underwent subtotal gastrectomy because of pyloric obstruction 2 years ago and was pathologically diagnosed with eosinophilic gastritis involving the duodenum. Subsequently, he developed ascites and intestinal obstruction, and his WBC count was 21.07 × 10^9/L and his eosinophil percentage was 70.4% at that time. After taking some traditional Chinese medicine whose ingredient is not clear for 1 mo, his symptoms were relieved. One month ago he developed ascites again. His eosinophil percentage was 90% in ascites, and his WBC count was 34.50 × 10^9/L and his eosinophil percentage was 82.1% in blood. Microscopic examination of biopsied specimens showed eosinophilic infiltration. After treatment with methylprednisolone, his symptoms regressed.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Eosinophilic gastroenteritis; Pyloric obstruction; Intestinal obstruction; Ascites

Wang NN, Li YL, Sun MJ. Eosinophilic gastroenteritis manifesting as pyloric obstruction, intestinal obstruction and ascites: A case report. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(18): 1785-1788 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1785.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i18.1785

摘要

嗜酸粒细胞性胃肠炎(eosinophilic gastroentertis, EG)是一种不明原因的罕见疾病, 以周围血中嗜酸粒细胞增高、胃肠道嗜酸粒细胞浸润及胃肠道水肿增厚为特征. 本文报道以“幽门梗阻、肠梗阻、腹水”为表现的EG 1例. 患者男, 33岁, 以间断烧心、嗳气3年, 腹痛、腹泻2年, 腹胀1年半入院. 患者2年前以幽门梗阻发病, 并行胃大部切除术, 术后病理诊断嗜酸细胞性胃炎累及十二指肠. 1年半前患者出现腹水、肠梗阻, 化验血常规: 白细胞计数(white blood cell count, WBC): 21.07×10^9/L, 嗜酸性粒细胞比率: 70.4%, 自服中药(成分不详)1 mo后症状缓解. 近1 mo患者再次出现腹水, 化验血WBC 34.50×10^9/L, EOS% 82.1%, 腹水涂片见嗜酸性粒细胞占90%, 行肠镜活检病理示嗜酸细胞浸润. 给予激素治疗后症状明显缓解.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 嗜酸粒细胞性胃肠炎; 幽门梗阻; 肠梗阻; 腹水

■背景资料
嗜酸粒细胞性胃肠炎(eosinophilic gastroentertis, EG)是一种不明原因的罕见疾病, 以周围血中嗜酸粒细胞增高、胃肠道嗜酸粒细胞浸润及胃肠道水肿增厚为特征. 该病变可累及从食管到直肠的全消化系, 临床表现无特异性, 且表现多种多样. 主要表现为腹痛、腹泻、恶心、呕吐、腹胀等, 少数患者甚至可出现腹水、便血、肠梗阻等.

■同行评议者
张国梁, 主任医师, 天津市第一中心医院消化内科

■研发前沿
EG的病理生理学机制尚不十分清楚，最近研究认为，EG的发病机制涉及环境和遗传因素，特别是食物过敏以及白介素5和选择性趋化因子的表达水平.

核心提示：嗜酸粒细胞性胃肠炎(eosinophilic gastroentertis, EG)是一种不明原因的罕见疾病，以周围血中嗜酸粒细胞增高、胃肠道嗜酸粒细胞浸润及胃肠道水肿增厚为特征. 最近研究认为，EG的发病机制涉及环境和遗传因素. 该病临床表现多样性. 激素是治疗EG的有效药物，能迅速缓解症状，并使外周血中嗜酸性粒细胞恢复正常.

王宁宁，李异玲，孙明军. 以“幽门梗阻、肠梗阻、腹水”为表现的嗜酸粒细胞性胃肠炎1例. 世界华人消化杂志 2013; 21(18): 1785-1788 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1785.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i18.1785

0 引言

嗜酸粒细胞性胃肠炎(eosinophilic gastroentertis, EG)是由Kaijse于1937年首次报道的一种不明原因的罕见疾病，以周围血中嗜酸粒细胞增高及胃肠道局部或弥漫性嗜酸粒细胞浸润为特征[1]. EG的发病年龄一般在20-50岁，男女比例约为2∶1[2]. 该病变可累及从食管到直肠的全消化系，以胃和小肠受累最为常见，结肠受累则以盲肠和升结肠多见. 本病临床表现无特异性，且表现多种多样. 主要表现为腹痛、腹泻、恶心、呕吐、腹胀等，少数患者甚至可出现腹水、便血、肠梗阻等. 由于对该病的认识不足，临床上常出现误诊、漏诊病例. 现将我院近期收治的1例以“幽门梗阻、肠梗阻、腹水”为表现的嗜酸粒细胞性胃肠炎病例报告如下.

1 病例报告

男，33岁，以“间断烧心、嗳气3年，腹痛、腹泻2年，腹胀1年半”为主诉于2013-02-17入院. 患者3年前无明显诱因出现烧心、嗳气，间断发作，未在意. 2年前出现上腹痛，伴有恶心、呕吐，呕吐胃内容物，有隔夜宿食，有腹泻，为稀水样便，无黏液及脓血，每日20余次，就诊于沈阳奉天医院，化验血常规：嗜酸性粒细胞比率(eosinophil, EOS%)18.4%，行胃镜检查提示幽门梗阻、十二指肠球部变形，经内科抑酸治疗效果不好. 于2011-03-21行胃大部切除术：术中见：胃肥大水肿，壁肥厚，胃小弯及胃窦部表面可见淡黄色纤维素组织覆着，十二指肠球部与周围组织黏连，幽门管与十二指肠球部小弯侧肥厚、质硬，切除远端胃约占2/3. 剖开切除胃见窦部胃腔狭窄，送病理. 术后病理：胃壁全层充血水肿较重，各层均有大量嗜酸细胞浸润，十二指肠壁各层也见大量嗜酸细胞浸润. 病理诊断：嗜酸细胞性胃炎累及十二指肠. 术后恶心、呕吐及腹痛、腹泻症状缓解，复查EOS%为16.4.

1年半前(术后5 mo)患者无明显诱因出现腹胀、乏力，腹围增大，伴有尿量减少，腹泻，10-20次/d，夜间明显，为稀水样便，无黏液脓血，无发热、腹痛. 再次就诊于奉天医院，行腹部超声提示盆腔积液. 行腹穿抽出腹水为淡黄色，化验镜下可见大量中性粒细胞成分，未见瘤细胞，未治疗. 后就诊于我院门诊行全腹增强CT示肠梗阻改变，考虑升横结肠内容物梗阻所致，肠壁水肿，腹腔积液，腹膜后多发肿大淋巴结，大网膜增厚伴密度不均匀，考虑转移不除外，化验血常规：白细胞计数(white blood cell count, WBC): 21.07×10^9/L, EOS%: 70.4%. 以肠梗阻收入我院外科，行胃镜提示残胃炎伴胆汁反流、吻合口炎. 肠镜未见异常. 网膜超声提示上腹网膜增厚伴结节，肠管略增宽，腹腔积液. 入院后给予补液、抗炎对症治疗，患者症状有所缓解后出院. 出院后自服中药(具体不详)约1 mo，自觉腹胀症状缓解，未复查.

1 mo前患者于感冒后再次出现腹胀、腹泻症状，性质同前. 就诊于我院门诊化验血常规(2013-01-23): WBC: 8.56×10^9/L, EOS%: 27.8%，腹部超声：右上腹网膜略增厚，盆腹腔积液. 后于当地医院住院，化验血常规(2013-02-04): WBC: 17.38×10^9/L, EOS%: 43.48%: 全腹CT(2013-02-04): 贲门区食道下段管壁增厚，部分肠管管壁增厚，盆腔积液. 肺CT未见异常. 给予抑酸、利尿治疗，患者腹胀、腹泻症状无好转. 为系统诊治入我院. 病来无头晕、头痛，无咳嗽、咳痰，无胸痛、气短，无皮疹及关节疼痛，食欲欠佳，体重较前无明显变化.

个人史：吸烟史7年，5支/d，戒烟2年. 无粉尘及特殊物质接触史. 过敏史：无.

入院查体：神清语明，体温正常，皮肤巩膜无黄染，睑结膜无苍白，心肺听诊无异常. 腹部膨隆，无腹壁静脉曲张，上腹正中见一长约10 cm纵行疤痕，全腹软，无压痛、反跳痛及肌紧张，肝脾肋下未触及，移动性浊音阳性，双下肢无浮肿.

实验室检查：2013-02-18血常规：WBC: 34.50×10^9/L, EOS: 28.32×10^9/L, EOS%: 82.1%，血总IgE测定：IgE 411.30 IU/mL，肝功酶学正常，白蛋白：32.8 g/L，免疫球蛋白IgA: 1.49 g/L, IgG: 14.4 g/L, IgM: 0.98 g/L，甲胎蛋白：7.97 ng/mL, CA: 12589.29 U/mL，肾功能、风湿3项、风湿抗体系列、尿常规、便常规正常.

■相关报道
张树荣等报道以腹水为主要表现的EG 15例，但迄今没有关于同时存在幽门梗阻、肠梗阻、腹水的EG报道.

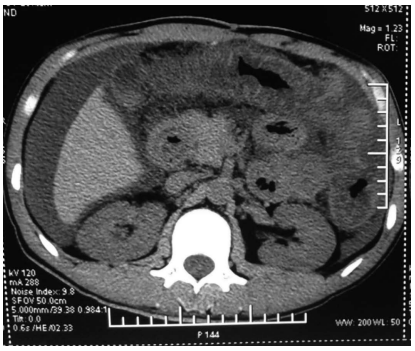


图 1 全腹CT.

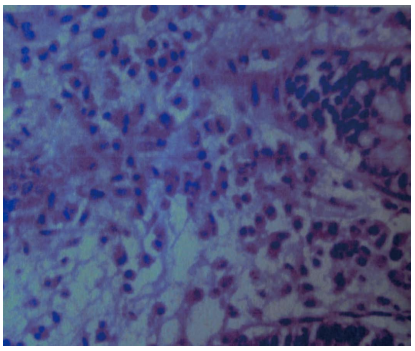


图 2 直肠病理.

腹水常规: 血性, 微浊, 细胞总数4800×10^6/L, 李凡他试验阳性, 单个核细胞比率10%, 分叶核细胞比率90%, 蛋白(积液常规) 40 g/L, 腹水淀粉酶正常. 腹水涂片: 可见大量嗜酸性粒细胞(90%以上).

全腹CT示部分肠管管壁增厚(图1), 盆腔积液. 肺CT未见异常. 胃镜: 胃大部切除、毕罗-Ⅰ式术后, 残胃-吻合口炎, 十二指肠水肿. 病理: 吻合口慢性炎症. 肠镜: 左半结肠黏膜水肿伴炎症改变. 病理: 降结肠慢性炎症伴嗜酸细胞浸润, 直肠慢性炎症伴嗜酸细胞浸润(图2).

骨穿报告: 粒细胞系统增生明显活跃, 以嗜酸性粒细胞为主, 细胞形态正常. 红细胞系统增生欠活跃, 细胞形态正常. 淋巴细胞比值减低, 细胞形态正常. 诊断: 嗜酸性粒细胞增多症. 骨髓F1P1L1/PDGFRa融合基因定性检测阴性.

结合患者既往病史及此次化验、检查资料, 诊断为嗜酸粒细胞性胃肠炎. 给予加用激素治疗: 甲泼尼龙120 mg日一次静点, 疗程3 d, 同时辅以抑酸、保护胃黏膜及补钙对症治疗. 3 d后复查血常规白细胞及嗜酸性粒细胞降至正常, 行腹部超声提示少量腹水(较前明显减少, 基本消退). 故给予强的松60 mg/d日一次口服序贯治疗, 1 wk后复查血常规嗜酸细胞仍为正常, 故激素逐渐减量.

2 讨论

EG是一种比较少见的胃肠疾病, 是以嗜酸细胞异常浸润胃肠黏膜层、黏膜下层、肌层和/或浆膜层, 甚至胃肠壁全层为典型特点的变态反应性疾病. 本病病因不明, 但组织中大量的嗜酸粒细胞浸润[3]以及多数病例的IgE显著升高[4], 提示他可能与其他过敏性疾病所诱发的超敏反应有关[5]. 最近研究认为, EG的发病机制涉及环境和遗传因素, 特别是食物过敏以及白介素5和选择性趋化因子的表达水平[6]. EG患者中约50%-70%有过敏性疾病史[7].

EG临床表现的多样性主要取决于病变累及胃肠道的部位、范围和程度. 临床上EG分为局限和弥漫2种类型[8], 后者又分为3个亚型, Ⅰ型为黏膜型, 最常见, 主要为胃肠黏膜充血水肿、糜烂、嗜酸细胞浸润, 主要表现为腹痛、腹泻; Ⅱ型为肌层型, 较少见, 胃肠壁增厚、僵硬、呈结节状, 可出现幽门梗阻及肠梗阻, 胃肠蠕动减弱或消失, 深层肌活检能发现嗜酸细 胞浸润; Ⅲ型为浆膜型, 罕见, 浆膜增厚并可累及肠系膜淋巴结, 引起腹膜炎、腹水, 腹腔镜或剖腹探查活检可见浆膜下嗜酸细胞浸润, 腹水中可见大量嗜酸细胞. 以上3型可单独或混合出现, 混合出现时形成混合型.

本例患者2年前主要表现为幽门梗阻, 经抑酸治疗无效行胃大部切除术, 术中见胃肥大水肿, 壁肥厚, 十二指肠球部与周围组织黏连, 幽门管与十二指肠球部小弯侧肥厚、质硬. 术后病理: 胃壁全层充血水肿较重, 各层均有大量嗜酸细胞浸润, 十二指肠壁各层也见大量嗜酸细胞浸润. 病理诊断: 嗜酸细胞性胃炎累及十二指肠, 故属于弥漫型中的Ⅱ型. 但术后未予激素治疗, 术后约5 mo, 患者出现肠梗阻及腹水的临床表现, 自行服用中药约1 mo腹胀症状缓解, 考虑口服中药中可能含有激素成分. 近1 mo再次出现腹胀, 化验血嗜酸性粒细胞比率最高达82.1%, 血IgE 411.30 IU/mL, 行腹部超声提示大量腹腔积液, 胃镜提示残胃-吻合口炎, 十二指肠水肿, 肠镜提示左半结肠黏膜水肿伴炎症改变, 腹部CT见部分肠管管壁增厚, 盆腔积液. 诊断性腹穿示洗肉水样腹水, 化验常规为渗出液, 涂片可见大量嗜酸性粒细胞. 肠镜病理提示嗜酸细胞浸润. 行骨穿及F1P1L1/PDGFRa融合基因定性检测除外白血病. 故本例病例由弥漫型中的Ⅱ型发展为Ⅲ型.

EG的治疗原则是避免接触过敏原, 抑制变

■创新盘点

临床上EG分为局限和弥漫2种类型, 后者又分为3个亚型, Ⅰ型为黏膜型, 最常见, Ⅱ型为肌层型, 较少见, Ⅲ型为浆膜型, 罕见, 本病例先后表现为幽门梗阻、肠梗阻、腹水, 由Ⅱ型发展为Ⅲ型, 非常罕见, 很有临床意义.

■应用要点

EG在临床上较为少见, 且临床表现和体征无特异性, 误诊率高, 尽早诊断EG能够使患者获得更好的治疗, 因此如果患者出现其他原因不能解释的消化系症状, 并且外周血嗜酸性粒细胞明显增高, 临床医生需高度警惕EG的可能.

■同行评价
EG在临床上比较少见, 临床上主要以Ⅰ型即黏膜型为最常见, 而Ⅱ型和Ⅲ型较罕见. 本病例先后表现为幽门梗阻、肠梗阻、腹水, 非常罕见, 很有临床意义, 对临床医师和内镜医师会有很大的帮助和启发.

态反应和稳定肥大细胞, 达到缓解症状、清除病变的目的. 一般认为, EG是一种自限性变态反应性疾病, 部分患者不经治疗而痊愈, 但可复发. 激素是治疗EG的有效药物, 能迅速缓解症状, 并使外周血中嗜酸性粒细胞恢复正常. 激素通常选用泼尼松, 剂量及疗程遵循个体化原则, 病情较重的患者起始剂量可用1 mg/kg体质量, 一般患者用30-40 mg/d, 病情好转后逐渐减量. 腹水患者建议首选甲泼尼龙80-160 mg/d, 静脉滴注, 3-7 d后再改为口服泼尼松治疗[9]. 该病例患者给予甲泼尼龙80 mg/d, 静脉滴注, 3 d后复查血嗜酸性粒细胞降至正常, 腹部超声提示腹水基本消失. 故减量, 给予醋酸泼尼松60 mg日一次口服, 3 d后复查血嗜酸性粒细胞仍为正常, 无反复. 1 wk后复查血嗜酸性粒细胞仍为正常, 给予激素逐渐减量.

由于EG在临床上较为少见, 且临床表现和体征无特异性, 因此误诊率高, 尽早诊断EG能够使患者获得更好的治疗, 并且能够较少不必要的手术治疗和死亡率. 因此如果患者出现其他原因不能解释的消化系症状, 并且外周血嗜酸性粒细胞明显增高, 临床医生需高度警惕EG的可能.

3 参考文献

1 Lee J, Dierkhising R, Wu TT, Alexander J, Weiler C. Eosinophilic gastrointestinal disorders (EGID) with peripheral eosinophilia: a retrospective review at Mayo Clinic. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 3254-3261 [PMID: 21655949 DOI: 10.1007/s10620-011-1754-3]

2 Mueller S. Classifi cation of eosinophilic gastrointestinal diseases. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2008; 22: 425-440 [DOI: 10.1016/j.bpg.2007.12.008]

3 Hurrell JM, Genta RM, Melton SD. Histopathologic diagnosis of eosinophilic conditions in the gastrointestinal tract. *Adv Anat Pathol* 2011; 18: 335-348 [PMID: 21841404 DOI: 10.1097/PAP.0b013e318229bfe2]

4 Okpara N, Aswad B, Baffy G. Eosinophilic colitis. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 2975-2979 [PMID: 19554649 DOI: 10.3748/wjg.15.2975]

5 Shifflet A, Forouhar F, Wu GY. Eosinophilic digestive diseases: eosinophilic esophagitis, gastroenteritis, and colitis. *J Formos Med Assoc* 2009; 108: 834-843 [PMID: 19933026 DOI: 10.1016/S0929-6646(09)60414-9]

6 Bischoff SC. Food allergy and eosinophilic gastro- enteritis and colitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2010; 10: 238-245 [DOI: 10.1097/ACI.0b013e32833982c3]

7 Pratt CA, Demain JG, Rathkopf MM. Food allergy and eosinophilic gastrointestinal disorders: guiding our diagnosis and treatment. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care* 2008; 38: 170-188 [PMID: 18522855 DOI: 10.1016/j.cppeds.2008.03.002]

8 Alfadda AA, Storr MA, Shaffer EA. Eosinophilic colitis: an update on pathophysiology and treatment. *Br Med Bull* 2011; 100: 59-72

9 张树荣, 范宗江, 李绕梅, 张延涛, 万淑琴, 朱颖, 江红娟. 以腹水为主要表现的嗜酸细胞性胃肠炎临床分析. 西南国防医药 2012; 22: 617-618

编辑 田滢 电编 闫晋利

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

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版)

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

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

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

世界华人消化杂志 2013年6月28日; 21(18): 1789-1790
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

病例报告 CASE REPORT

蜂窝织性阑尾炎并阑尾双腔畸形1例

周庆华, 邱其武

周庆华, 荆楚理工学院医学院 湖北省荆门市 448000
邱其武, 荆门市第一人民医院消化内科 湖北省荆门市 448000
周庆华, 讲师, 主要从事人体解剖学及组织胚胎学的研究.
作者贡献分布: 本论文写作由周庆华独立完成; 资料收集由邱其武完成.
通讯作者: 邱其武, 主治医师, 448000, 湖北省荆门市象山大道49号, 荆门市第一人民医院消化内科. 520zhouqinghua@163.com
收稿日期: 2013-04-16 修回日期: 2013-05-20
接受日期: 2013-05-25 在线出版日期: 2013-06-28

Phlegmonous appendicitis with appendiceal cavity malformation: A case report

Qing-Hua Zhou, Qi-Wu Qiu

Qing-Hua Zhou, Medical School of Jingchu University of Technology, Jingmen 448000, Hubei Province, China
Qi-Wu Qiu, Department of Gastroenterology, the First People's Hospital of Jingmen, Jingmen 448000, Hubei Province, China
Correspondence to: Qi-Wu Qiu, Attending Physician, Department of Gastroenterology, the First People's Hospital of Jingmen, Jingmen 448000, Hubei Province, China. 520zhouqinghua@163.com
Received: 2013-04-16 Revised: 2013-05-20
Accepted: 2013-05-25 Published online: 2013-06-28

Abstract
Although appendiceal variations and abnormalities are clinically common, malformation of the appendiceal cavity is rare. Since appendiceal variations and abnormalities are complicated, a direct link between malformation of the appendiceal cavity and the occurrence of appendicitis has not yet been established. Here we report a case of phlegmonous appendicitis with appendiceal cavity malformation in a 36-year-old man.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Appendicitis; Variation; Malformation; Appendiceal intracavity

Zhou QH, Qiu QW. Phlegmonous appendicitis with appendiceal cavity malformation: A case report. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(18): 1789-1790 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1789.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i18.1789

摘要
临床上阑尾的变异与畸形较多见, 但阑尾腔的解剖畸形却鲜见报道. 阑尾的变异与畸形比较复杂, 而阑尾腔的解剖畸形与阑尾炎的发生是否存在直接联系还没有定论, 临床工作中可对阑尾腔的解剖畸形多加关注, 或许可以找到其中的联系.

© 2013年版权归Baishideng所有.

关键词: 阑尾; 变异; 畸形; 阑尾腔

核心提示: 作者认为, 阑尾双腔畸形应有先天和后天之分, 先天性阑尾双腔畸形其分隔内有完整的平滑肌纤维, 为肌性分隔, 而后天性阑尾双腔畸形则和本例相同, 为纤维性分隔.

周庆华, 邱其武. 蜂窝织性阑尾炎并阑尾双腔畸形1例. 世界华人消化杂志 2013; 21(18): 1789-1790 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1789.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i18.1789

0 引言
阑尾的变异与畸形临床比较多见, 但阑尾腔的解剖畸形却鲜见报道. 我们在手术中发现阑尾双腔畸形1例, 作者认为, 本例阑尾腔的分隔畸形可能是导致阑尾腔内分泌物不易排除的重要原因之一, 现报道如下.

1 病例报告
男, 36岁. 右下腹间隙性钝痛3年, 急性发作2 d. 查体: 右下腹麦氏点压痛(+), 反跳痛(+), 未触及明显包块, 结肠充气试验阳性. 实验室检查: WBC 13×10^9/L, 诊断为慢性阑尾炎急性发作, 即日行阑尾切除术. 术中见: 腹腔内有少量炎性渗液, 大网膜包裹回盲部, 钝性分离后见阑尾为回肠前位, 略显淤血和肿胀, 未见穿孔, 周围无脓液. 常规行阑尾切除术, 术后予以抗炎、补液治疗. 病理检查: 阑尾大小7 cm×1 cm, 呈灰红色, 弯曲, 质地较硬, 浆膜面充血. 沿阑尾长轴居

■背景资料
阑尾的变异与畸形临床比较多见, 但阑尾腔的解剖畸形却鲜见报道. 作者认为, 阑尾腔的分隔畸形可能是导致阑尾腔内分泌物不易排除的重要原因之一.

■同行评议者
顾国利, 副主任医师, 中国人民解放军空军总医院普通外科

■**应用要点**
阑尾的变异与畸形比较复杂，而阑尾腔的解剖畸形与阑尾炎的发生是否存在直接联系还没有定论，临床工作中可对阑尾腔的解剖畸形多加关注，或许可以找到其中的联系.

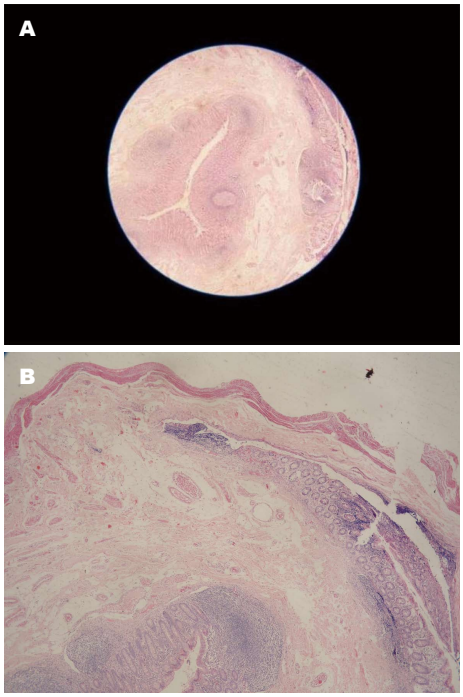


图 1 阑尾横断面镜下观. A: HE × 100; B: HE × 500.

中垂直横断，未见明显阑尾腔隙，疑似阑尾腔闭塞. 镜检: 阑尾形成双腔结构(图1A)，两腔互不相通，其间以疏松的纤维结缔组织相隔，其中一腔黏膜上皮较完整，另一腔靠近浆膜一侧下方腺体较少，且该侧肌层较薄(图1B)，另见阑尾肌层中有大量中性粒细胞浸润. 病理诊断: 蜂窝织性阑尾炎并阑尾双腔畸形. 患者术后切口愈合良好，7 d后痊愈出院.

2 结果

阑尾又称蚓突，是连于盲肠下端后内侧壁的一段蚓状盲管，长约6-8 cm，其内腔即为阑尾腔. 正常阑尾的阑尾腔较狭小，仅0.5 cm左右，腔壁由内向外可分为黏膜层、黏膜下层、肌层和外膜，腔面无绒毛和黏膜皱襞. 阑尾的发育异常有节段性阑尾、阑尾憩室、阑尾过长、阑尾过粗、短小阑尾、阑尾缺如等，但临床上鲜见阑尾双腔畸形的报道. 有研究表明，阑尾慢性炎症可引起纤维组织增生，并在阑尾腔内形成分隔，但分隔内没有平滑肌束，只有排列紊乱的纤维条索，属于纤维性分隔[1]. 而本案例中，镜检示阑尾形成双腔结构，两腔互不相通，其间以疏松的纤维结缔组织相隔，分隔内未见平滑肌纤维，即可排除先天性阑尾双腔畸形，而属于阑尾慢性炎症引起的纤维组织增生而形成的分隔[2]. 结合相关临床报道[3,4]，作者认为，阑尾双腔畸形应有先天和后天之分，先天性阑尾双腔畸形其分隔内有完整的平滑肌纤维，为肌性分隔，而后天性阑尾双腔畸形则和本例相同，为纤维性分隔. 同时作者分析，一方面阑尾的慢性炎症引起纤维组织增生导致了这种纤维性分隔；另一方面这种分隔畸形也导致了阑尾腔内的分泌物更不易排除. 因为阑尾腔内分泌物排出障碍，导致腔内压力增高，使患者出现右下腹疼痛的相关临床症状，当阑尾腔内分泌物部分被吸收后，腔内压力又降低，患者疼痛又缓解，故本案例中的患者表现为长达3年的间隙性钝痛. 因此，作者认为，阑尾的慢性炎症可引起后天性阑尾双腔畸形，而这种畸形的出现也反过来使阑尾炎症加剧. 总之，阑尾的变异与畸形比较复杂，而阑尾腔的解剖畸形与阑尾炎的发生是否存在直接联系还没有定论，临床工作中可对阑尾腔的解剖畸形多加关注，加大样本的收集，或许可以找到其中的联系.

■**同行评价**
阑尾双腔畸形的报道较少，本文对该病的诊治具有一定指导意义.

3 参考文献

1 鲁军泰, 吴继华, 杨占林, 武治华. 阑尾腔内分隔畸形1例. 诊断病理学杂志 2002; 9: 318
2 吴玉德, 胡石麟. 阑尾腔分隔发育畸形伴多发性憩室1例. 临床与实验病理学杂志 1987; 3: 封二
3 王海岭. 温树臣. 双腔阑尾1例. 中国解剖与临床 2001; 6: 24
4 金大显. 双腔阑尾1例. 吉林医学 1986; 7: 4

编辑 田滢 电编 闫晋利

世界华人消化杂志 2013年6月28日; 21(18): Ⅰ-Ⅴ
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《世界华人消化杂志》投稿须知

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊.

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569)》是一份同行评议和开放获取期刊(Open Access Journal, OAJ), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版. 《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区.

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病学, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章. 最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病学实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平.

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group, BPG)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上. OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊. 论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本. BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑.目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平.

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录. 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号. 《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊.

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

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals). 见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47.

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称. 医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文. 公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录.

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等. 为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上. 中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤). 通常应小写.

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

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量. 如 30 kD改为M_r 30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即A_r(A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体). 计量单位在+、－及-后列出. 在±前后均要列出, 如37.6 ℃±1.2 ℃, 45.6岁±24岁, 56.4 d±0.5 d. 3.56±0.27 pg/ml应为3.56 ng/L±0.27 ng/L. BP用kPa(mmHg), RBC数用1×10^{12}/L, WBC数用1×10^{9}/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. M_r明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm×6 cm×4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO_2结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1×10^{-3} g与5×10^{-7} g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg•d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO_2, 50 mL/L CO_2; 1∶1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45×10^{-6}; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示.

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ^2; (4)样本的

相关系数用英文小写r; (5)自由度用希文小写υ; (6)样本数用英文小写n; (7)概率用英文斜体大写P. 在统计学处理中在文字叙述时平均数±标准差表示为mean±SD, 平均数±标准误为mean±SE. 统计学显著性用$^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套P值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第三套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L±0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6 347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的mean±SD应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g±420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg±0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm±0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48→23.5→24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母≤100, 百分数到个位; 101≤分母≤1 000, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名，按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wcjd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版.

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致.

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号. 格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”.

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码. 例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致.

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象. 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度. 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征. 如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准. 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写*P*, 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值).

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 正文内序号连排用(1), (2), (3). 以下逐条陈述.

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系.

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可.

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论.

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾.

图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …. 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: $^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第3套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$. *P*值后注明何种检验及其具体数字, 如$P<0.01$, $t = 4.56$ *vs* 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用*t*/min, *c*/(mol/L), *p*/kPa, *V*/mL, *t*/℃表达.

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上

角注码号. 如马连生[1]报告……, 潘伯荣等[2-5]认为……; PCR方法敏感性高[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部),书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp

4.2 研究原著写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp

4.3 焦点论坛写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp

4.4 文献综述写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp

4.5 研究快报写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp

4.6 临床经验写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcjy.asp

4.7 病例报告写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx. 无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投稿须知下载网址http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf. 审稿过程平均时间需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审.

6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删节时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有.

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

http: //www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进.

世界华人消化杂志 2013年6月28日; 21(18): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

2013年国内国际会议预告

2013-01-24/26
美国临床肿瘤学会胃肠肿瘤(ASCO GI)研讨会
会议地点: 美国旧金山
联系方式: www.gicasym.org

2013-02-10/15
2013年肠道微生物组: 免疫网络效应/法规Keystone Symposia会议
会议地点: 美国
联系方式: info@keystonesymposia.org

2013-02-09/12
美国肠外与肠道营养学会(A.S.P.E.N.): 2013临床营养周(CNW 2013)
会议地点: 美国亚利桑那州凤凰城
联系方式: http://www.nutritioncare.org/ClinicalNutritionWeek/index.aspx?id=508

2013-02-22/23
国立压力性溃疡顾问委员会(NPUAP)全国双年会
会议地点: 美国休斯顿
联系方式: http://www.npuap.org/NPUAPnews-Spring11[1]

2013-02-22/23
迈阿密大学肝胆疾病临床实践会议
会议地点: 美国
联系方式: cme.med.miami.edu/x88.xml

2013-03-01/31
2013年北京第七届疝和腹壁外科国际学术研讨会
会议地点: 北京市
联系方式: zhshfbwkzz@yahoo.com.cn

2013-03-01/04
2013加拿大消化疾病周(CDDW)
会议地点: 加拿大
联系方式: www.cag-acg.org/cddw

2013-03-07/10
亚太肝脏研究协会(APASL)第23届会议
会议地点: 新加坡
联系方式: www.apaslconference.org

2013-03-15/17
2013年腹腔镜胃肠外科高峰论坛
会议地点: 深圳市
联系方式: ewancool@hotmail.com

2013-03-14/16
中部外科学会(CSA)2013年会
会议地点: 美国佛罗里达州阿米莉亚岛
联系方式: http://www.centralsurg.org/meeting/futuremtgs.html

2013-04-12/14
2013中国肛肠创新论坛(CICS)
会议地点: 北京市
联系方式: www.crdinnovation.com

2013-04-19/23
2013第2届国际肿瘤学论坛
会议地点: 瑞士
联系方式: cihexpo@163.com

2013-05-23/25
2013第六届世界癌症大会
会议地点: 西安市
联系方式: bithuiyi@163.com

2013-05-20/22
2013年第三届内分泌与代谢大会
会议地点: 西安市
联系方式: nancy@bitconferences.cn

2013-05-31/06-04
2013美国临床肿瘤协会年会
会议地点: 美国芝加哥
联系方式: yangxinxue999@163.com

2013-06-07/09
中国国际肿瘤营养与支持治疗研讨会暨第一届全国肿瘤营养与支持治疗学术会议
会议地点: 武汉市
联系方式: csonsc@VIP.163.com

2013-06-21/23
中国消化科学术论坛
会议地点: 张家界市
联系方式: casgmail@126.com

2013-07-13/14
中华医学会2013年肝病与代谢学术研讨会
会议地点: 银川市
联系方式: lilyjia@163.com

2014-09-26/30
第39届欧洲临床肿瘤学会年会
会议地点: 西班牙
联系方式: http://www.esmo.org/events/madrid-2014-esmo-congress.html

2013-10-18/20
第二十二届亚太抗癌大会
会议地点: 天津市
联系方式: secretariat@apcc2013.com

世界华人消化杂志 2013年6月28日; 21(18): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

• 志谢 •

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

陈卫昌 教授
苏州大学附属第一医院消化内科

崔云甫 教授
哈尔滨医科大学第二附属医院普外一科

杜奕奇 副教授
中国人民解放军第二军医大学长海医院

樊红 教授
东南大学基础医学院遗传与发育生物学系

冯志杰 主任医师
河北医科大学第二医院消化内科

顾国利 副主任医师
中国人民解放军空军总医院普通外科

郭永红 副主任医师
西安交通大学医学院第二附属医院传染病学

郝丽萍 副教授
华中科技大学同济医学院公共卫生学院营养与食品卫生学系

江建新 副主任医师
贵阳医学院附属医院肝胆胰脾外科

金山 教授
内蒙古医学院附属医院普通外科

李淑德 教授
中国人民解放军第二军医大学长海医院 消化内科

李瑜元 教授
广州市第一人民医院内科

刘宝林 教授
中国医科大学附属盛京医院

刘丽江 教授
江汉大学医学院

门秀丽 教授
河北联合大学(原华北煤炭医学院)病理生理学教研室

彭宗根 副研究员
中国医学科学院北京协和医学院医药生物技术研究所

秦建民 主任医师
上海中医药大学附属普陀医院

邱伟华 主任医师
上海交通大学医学院附属瑞金医院普外科

任粉玉 教授
吉林省延边大学附属医院消化内科

石毓君 副研究员
四川大学华西医院

庹必光 教授
遵义医学院附属医院

王刚 副研究员
哈尔滨医科大学附属第一医院

王文跃 主任医师
中日友好医院普通外科

王小众 教授
福建医科大学附属协和医院消化内科

魏睦新 教授
南京医科大学第一附属医院

吴君 主任医师
贵阳医学院附属医院感染科

薛东波 教授
哈尔滨医科大学附属第一医院

殷正丰 教授
中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院

张明辉 副主任医师
河北医科大学第一医院肝病中心

张占卿 主任医师
上海市复旦大学公共卫生中心肝脏病学、传染病学

世界华人消化杂志
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《中文核心期刊要目总览》收录证书

《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《**世界华人消化杂志**》入编《中文核心期刊要目总览》2011 年版（即第六版）之 **临床医学/特种医学类** 的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了 73 个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN 号、CN 号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被索量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web 下载量等 9 个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到 60 余种，统计到的文献数量共计 221177 余万篇次，涉及期刊 14400 余种。参加核心期刊评审的学科专家达 8200 多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出 1982 种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011 年版编委会
代章：
2012 年 1 月



百世登

Baishideng®

Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,
315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China
Fax: +852-3177-9906
Telephone: +852-6555-7188
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com



 © 2013 Baishideng. All rights reserved.